

UNTERSUCHUNGEN ZUR STABILITÄT
STABILISIERUNG UND
STABILITÄTSSTRECKEN ANALYTIK
VON CONJUGATEDEN IN
TRANSFORMATIONEN DER ANALYTIK

Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNTERSUCHUNGEN ZUR STABILITÄT, STABILISIERUNG UND STABILITÄTSSPEZIFISCHEN ANALYTIK VON CORTICOSTEROIDEN IN WASSERHALTIGEN DERMATIKA

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät Chemie und Pharmazie
der

Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von

Birgid Merk

aus Riesa/Elbe

MÜNCHEN · 1984

1. Berichterstatter: Prof. Dr. K. Thoma

2. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Eiden

Tag der mündlichen Prüfung: 27.07.1984

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Thoma am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer und Doktorvater,

Herrn Prof. Dr. K. Thoma,

danke ich herzlich für die Auswahl des Themas, seine wissenschaftliche Anleitung sowie für die vielfältige Förderung und jederzeit großzügig gewährte Unterstützung meiner Untersuchungen.

Herrn Dr. H. Aigner, Eschborn, gilt mein Dank für die Zusammenarbeit zur Lösung technischer HPLC-Probleme.

Fräulein I. Hiltmann danke ich für ihre sorgfältige Mitarbeit bei der Herstellung von Dermatika.

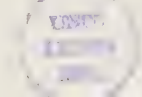
Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. <u>E i n f ü h r u n g</u>	11
I. Corticosteroide - Problem arzneistoffe in Externa?	11
II. Chemische Stabilität und Abbaureaktionen der untersuchten Corticosteroide	12
1. Hydrocortison	12
2. Hydrocortisonacetat	17
3. Dexamethason	18
4. Betamethason	20
5. Betamethason-17-valerat	21
6. Triamcinolonacetonid	21
III. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	24
B. <u>E r g e b n i s s e d e r U n t e r -</u> <u>s u c h u n g e n</u>	
I. Untersuchung der chemischen und physikalischen Stabilität corticosteroidhaltiger O/W-Fertig- arzneimittel	26
1. Überprüfung des Wirkstoffgehaltes ausgewählter Fertigarzneimittel	27
2. Veränderung des Wirkstoffgehaltes in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lager- temperatur	30
3. Beeinflussung der Partikelgröße von Corti- costeroiden in Abhängigkeit von der Lager- temperatur und der Lagerzeit	43
4. Veränderungen physikalisch-chemischer Eigenschaften der Grundlagen während der Lagerung	46

	Seite
5. Untersuchung organoleptisch wahrnehmbarer Veränderungen	56
6. Schlußfolgerungen für die pharmazeutische Praxis	58
II. Untersuchungen zur Instabilität und Stabilisierung von Corticosteroidcremes	61
1. Untersuchung von Einflußfaktoren auf die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Cremes .	63
2. Untersuchung von Einflußfaktoren auf die Stabilität von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes	93
3. Untersuchungen zur Zersetzungskinetik von Hydrocortison und Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes	113
4. Beeinflussung physikalisch-chemischer Eigenschaften von Corticosteroidcremes in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit	120
5. Schlußfolgerung aus den Befunden für die Entwicklung und Herstellung von Corticosteroidcremes	130
III. Instabilität und Stabilisierung von Dermatika mit einer Wirkstoffkombination aus Corticosteroid und Antihistaminikum	135
1. Chemische Stabilität und Abbaureaktionen von Dimetindenmaleat	136
2. Entwicklung eines spezifischen HPLC-Verfahrens zur Bestimmung von Betamethason und Dimetindenmaleat	139
3. Einflußfaktoren auf die Stabilität der Wirkstoffe in Propylenglykol/Wasser-Mischungen .	144

	Seite
4. Untersuchungen zur Stabilität der Wirkstoffkombination in verschiedenen dermatischen Zubereitungen	151
5. Beeinflussung physikalisch-chemischer Eigenschaften der Kombinationspräparate in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit	169
6. Diskussion und Schlußfolgerung	177
IV. Entwicklung eines HPLC-Verfahrens zur Bestimmung von Antihistaminika und Corticosteroiden auf Kieselgel mit polaren Eluenten	182
1. Auswirkung verschiedener Einflußfaktoren auf die Trennleistung	187
2. Diskussion und Schlußfolgerung	199
C. <u>Experimenteller Teil</u>	
I. Hochleistungsflüssigkeitschromatographische Bestimmungen	204
1. Geräte und Materialien	204
2. Durchführung der Bestimmungen	206
3. Errechnung von Kapazitätsfaktoren, relativer Retention und Auflösung	211
II. Herstellung wirkstoffhaltiger Dermatika	213
1. Geräte und Materialien	213
2. Herstellung im Rezepturmaßstab	214
3. Herstellung im geschlossenen System unter Sauerstoffausschluß	217
III. Extraktion der Wirkstoffe aus Dermatika	221
1. Geräte und Materialien	221
2. Aufbereitung von O/W-Zubereitungen	221



	Seite
3. Aufbereitung von W/O-Zubereitungen	222
4. Aufbereitung von Hydrogelen	222
5. Aufbereitung von Propylenglykol/Wasser- Mischungen	222
IV. Erstellung einer Fehleranalyse der Wirk- stoffbestimmung aus Dermatika	223
1. Bestimmung der Fehlerbreite bei der Untersuchung selbsthergestellter Cortico- steroidcremes	223
2. Bestimmung der Fehlerbreite bei der Untersuchung corticosteroidhaltiger Handelspräparate	224
3. Bestimmung der Fehlerbreite bei der Untersuchung von Dermatika mit der Wirk- stoffkombination Betamethason/Dimetinden- maleat	226
V. Untersuchung physikalisch-chemischer Eigen- schaften der Salbengrundlagen	227
1. Bestimmung des Wassergehaltes in O/W- Fertigarzneimitteln	227
2. Bestimmung des pH-Wertes	227
3. Messung der Konsistenz	228
4. Rheologische Untersuchungen	229
VI. Mikroskopische Untersuchung der Partikelgröße . .	231
D. <u>Z u s a m m e n f a s s u n g</u>	232
E. <u>L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s</u>	239

A. E i n f ü h r u n g

I. Corticosteroide - Problemarzneistoffe in Externa?

Im Jahre 1952 wurde in der Literatur erstmals über die Behandlung von Hauterkrankungen durch topische Anwendung eines Glucocorticoids berichtet (1). Seither nehmen Corticosteroidexterna aufgrund ihrer antiinflammatorischen, antiproliferativen und antiallergischen Wirkung in zunehmendem Maß einen zentralen Platz in der Therapie sehr verschiedener Dermatosen ein (2-5). Die steigende Zahl der ärztlichen Verordnung hat zu einem stetigen Anwachsen des Angebots an Fertigarzneimitteln geführt (6,7).

In der Roten Liste 1983 sind beispielsweise 39 Corticosteroidmonopräparate in 116 verschiedenen Applikationsformen mit insgesamt 24 verschiedenen Glucocorticoiden aufgeführt. Weiterhin finden sich 142 Kombinationspräparate in 198 verschiedenen Applikationsformen mit insgesamt 30 Corticosteroiden. Dabei sind keine Steroide in externen Darreichungsformen anderer Disziplinen wie beispielsweise der Rheumatologie berücksichtigt.

Die hohe Wirksamkeit der Glucocorticoide beinhaltet auch bei topischer Anwendung das Risiko lokaler und systemischer Nebenwirkungen (4, 6-9). Ihr Einsatz muß daher verantwortungsbewußt und kontrolliert erfolgen.

Eine wesentliche Voraussetzung zur Erzielung des angestrebten therapeutischen Effektes ist die pharmazeutische Qualität des Corticosteroidexternums, d.h. die dermale Verfügbarkeit des in der Regel in niedriger Konzentration enthaltenen Wirkstoffes, seine Dosierungsgenauigkeit sowie seine chemische Stabilität in der Grundlage. Zur Gewährleistung einer gleichbleibenden Freisetzung des Wirkstoffes aus dem Vehikel muß die physikalisch-chemische Stabilität der Grundlage selbst gesichert sein.

Während die Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Corticosteroidexterna sehr zahlreich sind (z.B. 10-15), liegen vergleichsweise wenige Arbeiten über die chemische Stabilität

dieser Wirkstoffe in Dermatika und insbesondere in Emulsionsgrundlagen vor.

Corticosteroide können in wäßriger und wäßrig-alkoholischer Lösung durch zahlreiche Einflüsse einer chemischen Zersetzung unterliegen. Da sich verschiedene Arbeitskreise mit der Isolierung und Strukturaufklärung der dabei entstehenden Abbauprodukte beschäftigt haben, ist der Mechanismus der Zersetzungsreaktionen in Lösung für viele Steroide bekannt.

Die chemische Stabilität der für die vorliegenden Untersuchungen ausgewählten Glucocorticoide stellt sich in wäßrigen oder wäßrig-alkoholischen Medien folgendermaßen dar:

II. Chemische Stabilität und Abbaureaktionen der untersuchten Corticosteroide

In Tabelle 1 sind die im Rahmen der vorliegenden Arbeit hinsichtlich ihrer Stabilität in O/W-Emulsionen untersuchten Corticosteroide aufgeführt.

Typisch für extern angewendete Corticosteroide ist eine Veresterung an C-17 (Betamethason-17-valerat) oder C-21 (Hydrocortisonacetat) sowie die Bildung von Acetoniden (Triamcinolonacetonid). Diese Substitutionen am Glucocorticoidgerüst verändern die Penetrationseigenschaften der Wirkstoffe in die Haut (5,16).

1. Hydrocortison

Am Beispiel des Hydrocortisons soll der Abbau von Corticosteroiden mit C-17-Dihydroxyacetonseitenkette dargelegt werden. Die beschriebenen Reaktionen lassen sich im wesentlichen auf strukturverwandte C-17-Hydroxycorticosteroide übertragen (17,18).

Hydrocortison als Pulver ist stabil an Luft (19), wenn es vorschriftsmäßig dicht verschlossen und vor Licht geschützt aufbewahrt wird (20-24). In wäßrigen und alkoholischen Medien unterliegt die Substanz zahlreichen oxidativen und nicht-oxidativen Abbaureaktionen (25), die, wie bei allen Cortico-

Verbindung	Struktur
Hydrocortison	<chem>OCC12CCC3=C(C(=O)O)CCC4=CC(=O)CC=C4C3=CC(=O)C12</chem>
Hydrocortison-acetat	<chem>CC(=O)OC12CCC3=C(C(=O)OC)CCC4=CC(=O)CC=C4C3=CC(=O)C12</chem>
Dexamethason	<chem>CC12CCC3=C(C(=O)O)CCC4=CC(=O)C(F)=CC4=CC(=O)C12</chem>
Betamethason	<chem>CC12CCC3=C(C(=O)C)CCC4=CC(=O)C(F)=CC4=CC(=O)C12</chem>
Betamethason-17-valerat	<chem>CCCC(=O)OC12CCC3=C(C(=O)C)CCC4=CC(=O)C(F)=CC4=CC(=O)C12</chem>
Triamcinolon-acetonid	<chem>CC(=O)OC12CCC3=C(C(=O)OC)CCC4=CC(=O)C(F)=CC4=CC(=O)C12</chem>

Tab. 1 Übersicht der untersuchten Corticosteroide

steroiden, stark pH-abhängig sind (17,18, 26-28). Unter anaeroben Bedingungen ist Hydrocortison am stabilsten im pH-Bereich zwischen 2,5 und 3,5 (17).

Ferner haben Luftsauerstoff (18,29), Schwermetallspuren (26, 28-31), Art und Konzentration des eingesetzten Puffers (25,28, 32,33), UV-Licht (34), Temperatur (26), saure und basische Verunreinigungen (18) sowie die Dielektrizitätskonstante des Mediums (35) Einfluß auf die Abbaugeschwindigkeit des Steroids.

Im einzelnen können folgende Bestandteile des Steroidmoleküls von Zersetzungsreaktionen betroffen sein:

A-Ring: Der A-Ring des Hydrocortisons unterliegt bei UV-Belastung einer photokatalytischen Zersetzung, die zur Absättigung der 4,5-Doppelbindung oder ihrer Verschiebung in den B-Ring führen kann. Da es sich bei Hydrocortison um ein Δ^4 -3-Ketosteroid handelt, der A-Ring also nur eine Doppelbindung besitzt, ist die Anfälligkeit gegenüber UV-Licht allerdings geringer als bei solchen Corticosteroiden, deren A-Ring zwei Doppelbindungen enthält (34).

C-Ring: Die 11 β -Hydroxylgruppe des Steroids kann der Luftoxidation unterliegen. Diese Reaktion erfolgt nur in Lösung, sie erfordert molekularen Sauerstoff. Katalysiert wird die Reaktion durch Hitze, UV-Licht und freie Radikale; sie wird unterdrückt durch Radikalfänger (36).

D-Ring: Im Vergleich zum Abbau der C-17-Dihydroxyacetonsseitenkette des D-Ringes sind die oben beschriebenen Zersetzungsreaktionen der Ringe A und C des Moleküls von sehr untergeordneter Bedeutung (29, 36-38). Weiterhin ist es für die Abbaureaktionen der C-17-Seitenkette ohne Bedeutung, ob der A-Ring eine oder zwei Doppelbindungen enthält. Auch ein Fluorsubstituent am C-9, wie z.B. bei Dexamethason oder Betamethason, hat keinen Einfluß auf die Seitenkettenreaktionen (17). Die C-17-Dihydroxyacetonsseitenkette unterliegt in wäßrigem und wäßrig-alkoholischem Medium sehr leicht aeroben und anaeroben Abbaureaktionen, die in Abhängigkeit vom pH-Wert zu unterschiedlichen sauren und neutralen Zwischen- und Endprodukten führen können. Unter alkalischen Bedingungen ist die Zerset-

zungsgeschwindigkeit höher (39) und die Zahl der entstehenden Abbauprodukte größer (19,25,40). Im sauren Milieu bilden sich teilweise andere Zersetzungsprodukte.

Abbildung 1 zeigt zusammenfassend die Hauptabbauprodukte des Hydrocortisons (I), deren Struktur aufgeklärt werden konnte. Unter anaeroben Bedingungen entsteht im stark sauren Milieu fast quantitativ das Glyoxal C-17-Deoxy-21-dehydrohydrocortison (IV, neutrales Abbauprodukt). Im schwächer sauren Bereich nimmt der Anteil dieser Substanz ab, sie ist aber bis $\text{pH} \leq 6$ nachweisbar (27,33,41,42). In höheren pH-Bereichen, bevorzugt pH 7-8, bildet sich dagegen das C-17-Ketosteroid des Hydrocortisons (IX, neutrales Abbauprodukt) (43), welches von einigen Autoren als Hauptzersetzungsprodukt oder alleiniges Zersetzungsprodukt angegeben wird (44,45), und eine C-17-Deoxyglycolsäure (VI, saures Abbauprodukt) (40). Ab pH 8 entsteht außerdem C-17-Deoxyhydrocortison (II, neutrales Abbauprodukt) (46) sowie die C-17-Deoxy-17-carbonsäure (VIII, saures Abbauprodukt) (47). Unter teilweisem Verlust der C-17-Seitenkette und Ausbildung eines D-6-Ringes ist bei alkalischem pH-Wert auch die Bildung eines D-Homosteroids möglich (Xa, Xb, neutrales Abbauprodukt) (48).

Unter aeroben Bedingungen verläuft die Reaktion im Sauren ebenfalls zum C-17-Deoxy-21-dehydrohydrocortison (IV) (27); im Neutralbereich und im Basischen bildet sich dagegen bevorzugt das Glyoxal C-21-Dehydrohydrocortison (III, neutrales Abbauprodukt) (26). Da dieses Glyoxal ausschließlich unter aeroben Bedingungen entsteht, läßt das Auftreten oder Fehlen der Substanz in einem Gemisch von Abbauprodukten eines C-17-Hydroxycorticosteroids Rückschlüsse auf aerobe oder anaerobe Reaktionsbedingungen zu (49). Weiterhin entsteht bei alkalischem pH-Wert unter aeroben Bedingungen die C-20-Hydroxy-21-carbonsäure (V, saures Abbauprodukt), sowie die C-17-Hydroxy-17-carbonsäure (VII, saures Abbauprodukt) (40,42). Die Bildung saurer Reaktionsprodukte erfolgt unter aeroben Bedingungen schneller als unter anaeroben (39).

Viele Oxidationsreaktionen an der C-17-Seitenkette werden durch Schwermetallspuren katalysiert (25,26,31,35), die oft-

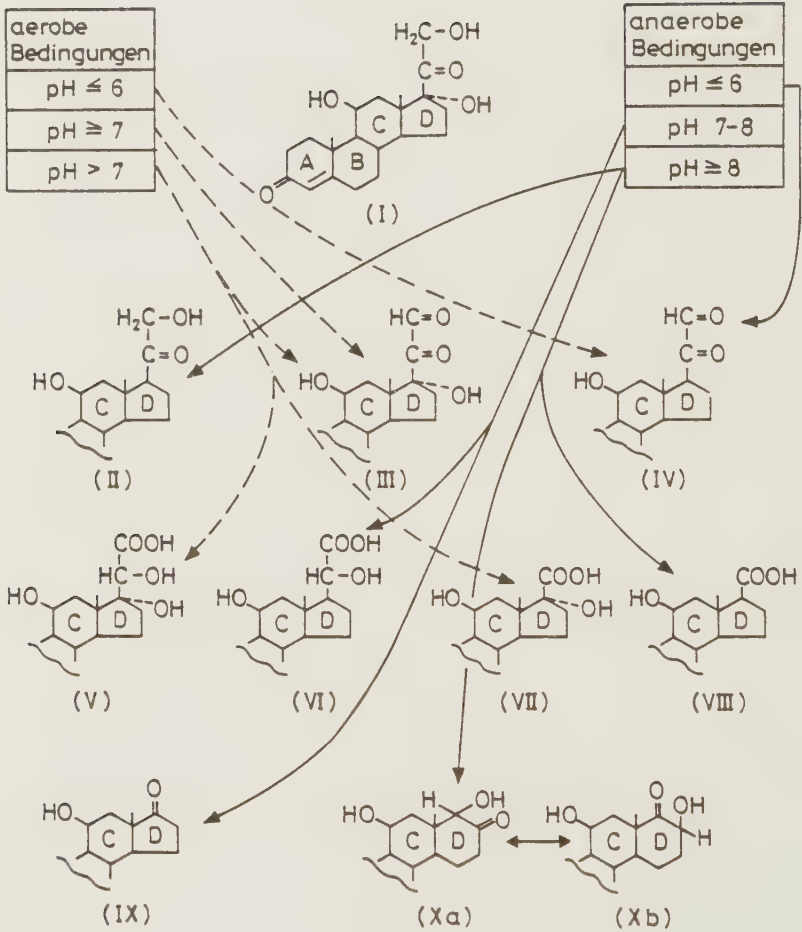


Abb. 1 Hydrocortison und seine Hauptabbauprodukte

mals als Verunreinigungen in Phosphat-, Carbonat- oder Boratpuffern enthalten sind (28,50). So kann der Abbau der C-17-Dihydroxyacetonseitenkette durch hohe Pufferkonzentrationen beschleunigt, durch Zusatz eines Komplexbildners wie Na-EDTA dagegen vermindert werden (26,28). BUNDGAARD und HANSEN (26, 27,40) fanden in ihren Untersuchungen bei Zusatz von Na-EDTA nur eine Verbesserung der Steroidstabilität im neutralen und basischen pH-Bereich, wogegen der Komplexbildner im Sauren keinen stabilisierenden Einfluß zeigte. Sie schlossen daraus, daß die Schwermetallkatalyse im Sauren für den Abbau der C-17-Seitenkette weniger Bedeutung hat. TIMMINS und GRAY (51) stellten dagegen bei Stabilitätsuntersuchungen an Hydrocortison in einer Zinkoxid-Lotio von pH 8,76 keine verminderte Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroids bei Zugabe von Na-EDTA fest. In dieser Zubereitung gelang es aber, durch Zusatz des Redoxstabilisators Natriumbisulfit die Bildung des C-17-Ketosteroids zu vermindern.

HANSEN und BUNDGAARD (35) untersuchten den Einfluß der Dielektrizitätskonstante auf den Abbau von Hydrocortison unter anaeroben Bedingungen, indem sie einer wäßrig-alkoholischen Lösung des Steroids verschiedene Alkohole in unterschiedlichen Konzentrationen zusetzten. Sie stellten fest, daß die oxidativen Zersetzungsprodukte von Hydrocortison bei Erhöhung des Alkoholanteils (also Erniedrigung der Dielektrizitätskonstante) abnahmen, wogegen die Bildung der nichtoxidativen Abbauprodukte vom Zusatz der Alkohole unabhängig war.

2. Hydrocortisonacetat

Hydrocortisonacetat ist der Steroid-21-Monoester des Hydrocortisons, unterscheidet sich also von Hydrocortison nur in der Estergruppierung am C-21.

Wie für alle Corticosteroide fordern die Arzneibücher auch für Hydrocortisonacetat eine vor Licht geschützte Aufbewahrung in fest verschlossenen Gefäßen (20-24).

Für Abbaureaktionen an den Ring A und C des Steroidmoleküls gelten die gleichen Voraussetzungen, wie sie für Hydro-

cortison beschrieben wurden (vgl. A.II.1). Mit einer möglichen Zersetzung des A-Ringes muß nur unter Einwirkung von UV-Licht gerechnet werden. Die Eliminierung der 11β -Hydroxylgruppe kann quantitativ im Vergleich zum C-17-Seitenkettenabbau vernachlässigt werden.

D-Ring: Die C-17-Seitenkette des Hydrocortisonacetats ist wiederum Hauptangriffsort der Zersetzungsreaktionen. Sowohl im sauren als auch im alkalischen pH-Bereich unterliegt Hydrocortisonacetat zunächst der Hydrolyse zu Hydrocortison, so daß der freie Steroidalkohol das zuerst entstehende Abbauprodukt des Steroidesters darstellt (52). Mit einer Umlagerung von Hydrocortison-21-acetat zu Hydrocortison-17-acetat muß dagegen nicht gerechnet werden, da Steroid-21-monoester thermodynamisch stabiler sind (53).

Für die weitere Zersetzung des entstandenen Hydrocortisons gelten die gleichen Voraussetzungen und Abbauege wie unter A.II.1 diskutiert.

3. Dexamethason

Wird Dexamethason als Pulver vorschriftsmäßig verschlossen und vor Licht geschützt aufbewahrt (21,22,24,54), so ist es stabil an Luft (55).

In wäßrigen und wäßrig-alkoholischen Lösungen unterliegt das Steroid zahlreichen pH-abhängigen Zersetzungsreaktionen. Die geringste Abbaurate ist im pH-Bereich von 3,0 bis 3,5 zu erwarten (17).

Im einzelnen sind folgende Teile des Steroidmoleküls Angriffsort möglicher Zersetzungsreaktionen:

A-Ring: Im Falle des Dexamethasons besitzt der A-Ring zwei Doppelbindungen, deshalb ist seine Empfindlichkeit gegenüber UV-Licht größer als bei den beiden bisher diskutierten Corticosteroiden (34). UV-Belastung kann bei $\Delta^{1,4}$ -3-Ketosteroiden im A-Ring zu verschiedenen Umlagerungsreaktionen, zur Aromatisierung sowie zur Verschiebung einer Doppelbindung in den B-Ring führen (18,34). Auch Ringspaltungen sind in der Literatur erwähnt (37).

B-Ring: Eine Abspaltung des Fluorsubstituenten am C-9 tritt im gesamten pH-Bereich sowie auch unter hoher Temperaturbelastung kaum auf und kann im Vergleich zum Abbau der C-17-Seitenkette vernachlässigt werden (17,56). Der Fluorsubstituent hat auch keinen Einfluß auf die Stabilität der C-17-Seitenkette (17).

C-Ring: Für die Elimination der 11 β -Hydroxylgruppe gelten die bei Hydrocortison gemachten Aussagen (vgl. A.II.1).

D-Ring: Wie bei allen C-21-Hydroxycorticosteroiden ist auch bei Dexamethason die C-17-Seitenkette der hauptsächliche Angriffsort aller Zersetzungsreaktionen, sofern der Einfluß von UV-Licht und damit eine Veränderung des A-Ringes auszuschließen ist.

In Gegenwart basischer Katalysatoren kann die C-17-Seitenkette des Dexamethasons mit einer Halbwertszeit von 6-8 min abgebaut werden (55). DEKKER und BEIJNEN (17,57) untersuchten den Einfluß der C-16-Methylgruppe auf die Steroidstabilität und stellten fest, daß sich dieser Substituent stabilisierend auf den Abbau der C-17-Seitenkette auswirkt. So ermittelten die Autoren unter anaeroben Bedingungen bei Raumtemperatur für Dexamethason eine höhere Stabilität als für Prednisolon (17). Unter Temperaturbelastung wurde dagegen für Dexamethason eine im Vergleich zu anderen untersuchten C-21-Hydroxycorticosteroiden deutlich erhöhte Zersetzungsgeschwindigkeit festgestellt (26). Bei einer Temperaturerhöhung von 20°C auf 60°C erhöhte sich die Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroids in wäßriger Lösung von pH 7,0 um das 37-fache (58).

Im wesentlichen unterliegt die C-17-Seitenkette des Dexamethasons den gleichen Zersetzungsreaktionen wie Hydrocortison (vgl. A.II.1). Unter alkalischen, anaeroben Bedingungen bildet das Steroid jedoch hauptsächlich neutrale Abbauprodukte. Bevorzugt entstehen das C-16 α - und das C-16 β -Methyl-17-ketosteroid (57,59) sowie unter Erweiterung des D-Ringes ein entsprechendes Homosteroid (57).

Aerobe und anaerobe Zersetzungsreaktionen können außerdem zu den entsprechenden Glyoxalen führen (26,50). Im sauren Milieu wurde das C-17-Deoxyglyoxal als Hauptabbauprodukt nachgewiesen (27).

Lediglich beim aeroben basenkatalysierten Abbau wurde ein saures Zersetzungsprodukt des Dexamethasons, die C-17-Hydroxy-17-carbonsäure, gefunden (60,61).

4. Betamethason

Auch Betamethason ist als Pulver stabil an Luft, muß aber dicht verschlossen und vor UV-Licht geschützt aufbewahrt werden (20-22).

Im wäßrigen Medium zeigt das Steroid die höchste Stabilität im pH-Bereich zwischen 3,0 und 4,0 (17).

Betamethason unterscheidet sich von Dexamethason nur in der β -Orientierung der Methylgruppe am C-16 (Dexamethason: C-16 α -Stellung).

Für mögliche Abbaureaktionen der Ringe A, B und C gelten die gleichen Voraussetzungen wie für Dexamethason (vgl. A.II.3). Es ist nicht zu erwarten, daß die Stellung der C-16-Methylgruppe Einfluß auf diese, im Vergleich zum C-17-Seitenkettenabbau vernachlässigbaren, Reaktionen besitzt. Auch in der Literatur sind hierzu keine Angaben zu finden.

D-Ring: Dagegen hat die Orientierung der C-16-Methylgruppe durchaus Bedeutung für den Verlauf der C-17-Seitenkettenzersezung (17,57). Während Dexamethason unter alkalischen, anaeroben Bedingungen hauptsächlich neutrale Abbauprodukte bildet, zerfällt Betamethason im gleichen Milieu bevorzugt in saure Produkte. Die dabei entstehenden Hauptzersetzungsprodukte sind die C-17-Deoxy-17-carbonsäure sowie C-17-Deoxy-20-hydroxy-21-carbonsäure. DEKKER und BEIJNEN (17) ermittelten in stickstoffbegasten, wäßrigen Medien eine höhere Stabilität für Betamethason im Vergleich zu Dexamethason in pH-Bereichen ≤ 5 . Bei pH-Werten über 5 erwies sich dagegen Dexamethason als stabiler.

5. Betamethason-17-valerat

Betamethason-17-valerat soll als Pulver ebenfalls trocken und lichtgeschützt aufbewahrt werden (21,22).

Im wäßrigen Medium zeigt das Steroid die größte Stabilität bei einem pH-Wert von 3,5. Sowohl in niedrigeren als auch in höheren pH-Bereichen steigt die Zersetzungsgeschwindigkeit stark an (62).

Zum Abbau der Ringe A, B und C wird auf die Diskussion bei Betamethason (vgl. A.II.4) bzw. Dexamethason (vgl. A.II.3) verwiesen.

D-Ring: Wie alle Steroid-17 α -Monoester unterliegt Betamethason-17-valerat sowohl unter Säure- als auch unter Basenkatalyse zunächst einer Umlagerung zum C-21-Monoester (53, 61-64), da der C-21-Ester thermodynamisch stabiler ist (53).

Dieser Umlagerungsreaktion folgt eine Hydrolyse des C-21-Monoesters zum freien Betamethason (53, 61-64). Unter alkalischen Bedingungen, etwa ab pH 7-8, erfolgt die Umlagerungsreaktion wesentlich rascher als die anschließende Hydrolyse. Bei pH-Werten <7 bildet sich dagegen Betamethason ebenso schnell wie der C-21-Ester entsteht (62,63). HANSEN und BUNDGAARD (64) konnten in Phosphatpufferlösungen von pH 7,5 freies Betamethason erst nachweisen, als sich Betamethason-17-valerat quantitativ zum C-21-Ester umgelagert hatte.

Entstandenes Betamethason kann anschließend oxidativen und nichtoxidativen Folgezersetzungen unterliegen, wie sie unter A.II.4 beschrieben wurden.

6. Triamcinolonacetonid

Triamcinolonacetonid ist als Pulver stabil (65), muß aber vor UV-Licht geschützt und gut verschlossen aufbewahrt werden (21,22).

Für das pH-Optimum der Substanz in wäßrigen Medien finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. So ermittelten TIMMINS und GRAY (66) die höchste Stabilität für Triamci-

nolonacetonid bei pH 4,0, wogegen DAS GUPTA (67) die geringste Zersetzungsrates des Steroids bei pH 3,4 fand. Zwischen pH 1 und 3 unterliegen die Abbaureaktionen starker Säurekatalyse. Während zwischen pH 4 und 7 ebenfalls die Degradationsrate deutlich ansteigt, bleibt sie im pH-Bereich von 7 bis 9 weitgehend konstant. Bei pH-Werten über 9 tritt eine starke Basenkatalyse ein (66).

Da es sich bei Triamcinolonacetonid um ein $\Delta^{1,4}$ -3-Ketosteroid handelt, gelten für die photokatalytische Zersetzung des A-Ringes die gleichen Reaktionsmöglichkeiten wie bei Dexamethason beschrieben (vgl. A.II.3). Hinsichtlich der vernachlässigbaren Abspaltung des C-9-Fluorsubstituenten am Ring B wird ebenfalls auf die zugehörige Diskussion bei Dexamethason verwiesen. Zur Elimination der 11β -Hydroxylgruppe am Ring C gelten die bei Hydrocortison gemachten Angaben (vgl. A.II.1).

TIMMINS und GRAY (66), die den Abbau von Triamcinolonacetonid über einen pH-Bereich von 1,4 bis 11,7 in verschiedenen wässrigen Pufferlösungen untersuchten, stellten fest, daß die Zersetzungsreaktionen unter diesen Bedingungen ausschließlich den D-Ring betreffen.

Während für Triamcinolon in der Literatur die Isomerisierung zu einem D-Homosteroid unter Ausbildung eines D-6-Ringes beschrieben wird (65,66,68), stabilisiert die cyclische Ketalgruppe des Triamcinolonacetonids das Molekül, und es wurden keine ähnlichen Umlagerungsreaktionen beobachtet (66).

In wässrigen und alkoholischen Medien können die Seitenketten des D-Ringes verschiedenen Abbaureaktionen unterliegen. Abbildung 2 zeigt die möglichen entstehenden Zersetzungsprodukte. Eine Hydrolyse des Triamcinolonacetonids (I) zu freiem Triamcinolon (II) und Aceton erfolgt nur unter stark sauren Bedingungen bei pH-Werten ≤ 2 (67,69). In Gegenwart verschiedener alkalischer Puffer fanden SMITH und MARX (69) zwei Abbauprodukte (III, IV). Unter Einwirkung des Oxidationsmittels Natriumwismuthat konnte die Bildung einer C-17-Carbonsäure (V) des Triamcinolonacetonids nachgewiesen werden (68).

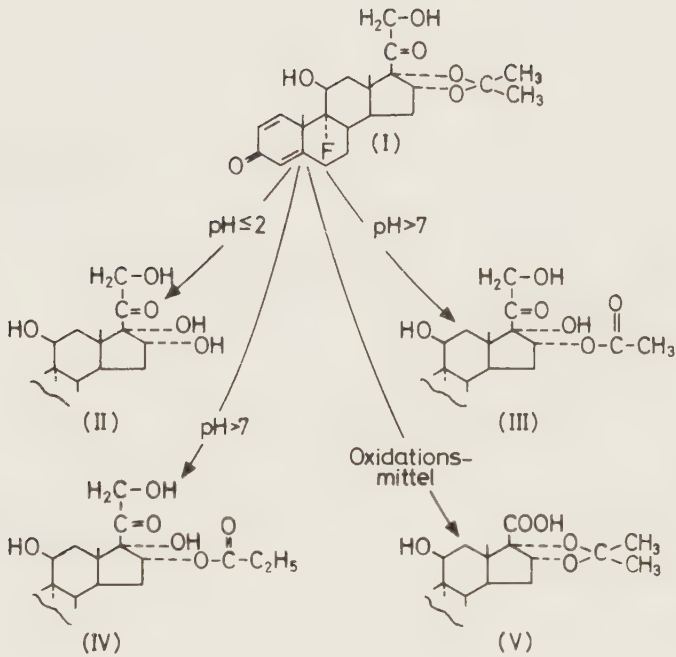


Abb. 2 Triamcinolonacetone und seine Hauptabbauprodukte

III. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Wie die dargelegten Beispiele deutlich machen, können Corticosteroide in wäßrigen Medien zahlreichen Degradationsvorgängen unterliegen.

In Arzneiformen zur kutanen Anwendung sind Corticosteroide überwiegend in suspensierter Form in ein- oder zweiphasigen Grundlagen enthalten. Dabei muß davon ausgegangen werden, daß insbesondere in steroidhaltigen Zweiphasensystemen und innerhalb dieser wiederum bevorzugt bei O/W-Zubereitungen Haltbarkeitsprobleme auftreten.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden deshalb ausführliche Untersuchungen zur Stabilität topischer Corticosteroide in O/W-Emulsionen durchgeführt.

Um Aufschluß über die Qualität corticosteroidhaltiger O/W-Fertigarzneimittel zu erhalten, sollte dabei zunächst die chemische und physikalische Stabilität ausgewählter Handelspräparate überprüft werden. Um weiterhin Aussagen über den Einfluß von Lagerzeit und Lagertemperatur machen zu können, wurde die Veränderung der untersuchten Parameter über einen längeren Lagerzeitraum verfolgt.

Anhand von Eigenrezepturen sollten Verlauf und Ursachen der chemischen und physikalischen Instabilität von Corticosteroidcremes untersucht sowie wirksame Maßnahmen zur Verbesserung der Haltbarkeit ermittelt werden. In diesem Zusammenhang war es weiterhin notwendig abzuklären, inwieweit sich Unterschiede im Zersetzungsverhalten sowie in der Stabilisierungsmöglichkeit zwischen Steroidalkoholen und Steroidestern ergeben. Bei der Identifizierung der durch variierende Einflußfaktoren entstehenden Abbauprodukte sollte, soweit möglich, auf Angaben der Literatur aufgebaut werden.

Ein weiteres Teilgebiet der Arbeit galt der Stabilitätsuntersuchung einer Wirkstoffkombination aus Corticosteroid und Antihistaminikum. Das primäre Ziel dieser Versuche bestand wiederum darin, die Voraussetzungen zur Herstellung einer haltbaren O/W-Creme mit der Kombination beider Arzneistoffe

zu schaffen. Darüber hinaus sollten im Hinblick auf eine möglichst vielseitige dermatologische Anwendbarkeit der Wirkstoffkombination Stabilisierungsversuche in W/O-Zubereitungen und Hydrogelen vorgenommen werden. Im Rahmen dieser Untersuchungen war es notwendig, eine stabilitätsspezifische, quantitative Analysenmethode der Wirkstoffkombination zu erstellen.

Das abschließende Kapitel der vorliegenden Arbeit galt der Entwicklung eines hochleistungsflüssigkeitschromatographischen Verfahrens zur Bestimmung und Trennung der strukturell sehr unterschiedlichen Arzneistoffgruppen der Antihistaminika und der Corticosteroide auf selbst modifizierten Kieselgelsäulen mit polaren, wäßrigen Eluenten. Dabei war zunächst von Interesse, ob nicht entgegen der allgemeinen Lehrmeinung, wonach auf stationären Kieselgelphasen keine polaren, wäßrigen Fließmittelsysteme eingesetzt werden, unter bestimmten Bedingungen ein solches Verfahren möglich ist. Weiterhin war zu prüfen, welche Eigenschaften ein derartiges Trennsystem zeigt und inwieweit sich Vorteile gegenüber herkömmlichen reversed-phase-Materialien ergeben.

B. Ergebnisse der Untersuchungen

I. Untersuchung der chemischen und physikalischen Stabilität corticosteroidhaltiger O/W-Fertigarzneimittel

Corticosteroide werden heute in einem großen Spektrum therapeutisch notwendiger Grundlagen zur externen Anwendung angeboten.

Dabei sind insbesondere O/W-Zubereitungen aufgrund ihrer guten Wirkstoffverfügbarkeit, ihrer Verträglichkeit und kühlenden Wirkung auf der Haut sowie ihrer Einsatzmöglichkeit auch im akuten Stadium einer Dermatoe häufig bevorzugt (9,70). So handelt es sich bei fast 40% der gegenwärtig auf dem deutschen Markt erhältlichen, topischen Corticosteroidmonopräparate um O/W-Cremes und -Lotionen.

Die Stabilität von Corticosteroiden ist von verschiedenen Arbeitskreisen vornehmlich in wäßrigen und wäßrig-alkoholischen Lösungen untersucht worden. Es ist daher bekannt, daß diese hochwirksamen Arzneistoffe in solchen Medien hydrolytischer Spaltung, oxidativer Zersetzung und verschiedenen Umlagerungsreaktionen unterliegen können.

Über die chemische Stabilität topischer Steroide in handelsüblichen O/W-Emulsionen sind dagegen bisher nur wenige Untersuchungen zugänglich (45,71). So wurde über einen rasch fortschreitenden Wirkungsverlust corticosteroidhaltiger Fertigarzneimittel nach Verdünnung mit verschiedenen Cremegrundlagen der Arzneibücher berichtet (61,72).

Bemerkenswert ist, daß nur etwa 3,5% der gegenwärtig auf dem deutschen Markt befindlichen, steroidhaltigen O/W-Externa ein Verfalldatum tragen; lediglich bei etwa 6% ist ein besonderer Lagerungshinweis vermerkt.

Bei wasserfreien Dermatika wird über eine verhältnismäßig gute Stabilität von inkorporierten Corticosteroiden berichtet (71). In Anbetracht der für Lösungen beschriebenen, stabilitätsmindernden Faktoren ist jedoch zu erwarten, daß die Verarbeitung von Corticosteroiden in wäßrige Zweiphasensysteme mit größeren Stabilitätsproblemen verbunden ist.

Um Aufschluß über die Qualität der gegenwärtig auf dem Markt befindlichen Handelspräparate zu erhalten, wurde daher im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen zunächst die chemische und physikalische Stabilität von 11 corticosteroidhaltigen O/W-Fertigarzneimitteln untersucht und deren Veränderung in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur verfolgt.

1. Überprüfung des Wirkstoffgehaltes ausgewählter Fertig- arzneimittel

Mit Hilfe stabilitätsspezifischer, hochleistungsflüssigkeits-chromatographischer Verfahren wurde der Wirkstoffgehalt in 11 corticosteroidhaltigen O/W-Fertigarzneimitteln unmittelbar nach Erhalt von den Herstellern bestimmt. Bei acht Präparaten handelte es sich dabei um halbfeste O/W-Cremes, drei Zubereitungen waren flüssige O/W-Lotionen.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, lag der deklarierte Steroidgehalt der Zubereitungen zwischen 0,25 und 5,0 mg/g bzw. ml. Das Alter dieser Fertig-arzneimittel war laut Chargenbezeichnung sehr unterschiedlich und bewegte sich zwischen einem Monat und zweieinhalb Jahren (73). Keines dieser Präparate trug ein offenes Verfalldatum, besondere Lagerungshinweise befanden sich auf drei Packungen.

Wie aus Abbildung 3 zu entnehmen ist, war der Gehalt der vom Hersteller bezogenen Präparate an unzersetztem Steroid sehr unterschiedlich. Einige Zubereitungen wiesen einen deutlichen Mindergehalt auf, bei Präparat H lag er dabei um 45% unter dem deklarierten Wert. Insgesamt erfüllten fünf Handelspräparate nicht den als allgemeines Haltbarkeitskriterium angesehenen Grenzwert von mindestens 90% des deklarierten Gehaltes. Präparat E enthielt dagegen zum Zeitpunkt der Untersuchungen einen Stabilitätszuschlag von 16%.

Insgesamt ließ sich kein deutlicher Zusammenhang zwischen dem ungefähren Alter der Fertig-arzneimittel und ihrem Gehalt an unzersetztem Corticosteroid feststellen.

Präparat	Zubereitung	Wirkstoff	deklarerter Steroidgehalt	Alter bei Erhalt	Mindesthaltbarkeit	Lagerungshinweise
A	O/W-Creme halbfest	Triamcinolonacetamid	1 mg/g	<31 Monate	3 Jahre	vor Frost zu schützen
B	O/W-Creme halbfest	Triamcinolonacetamid	1 mg/g	ca. 10 Monate	4 Jahre	-
C	O/W-Creme halbfest	Triamcinolonacetamid	0,25 mg/g	6-18 Monate	5 Jahre	bei Raumtemperatur
D	O/W-Creme halbfest	Hydrocortisonacetat	2 mg/g	ca. 11 Monate	>3 Jahre	-
E	O/W-Creme halbfest	Hydrocortisonacetat	2 mg/g	1 Monat	>3 Jahre	-
F	O/W-Lotio flüssig	Hydrocortison	5 mg/ml	18-21 Monate	5 Jahre	-
G	O/W-Creme halbfest	Dexamethason	1 mg/g	28 Monate	keine Angabe	-
H	O/W-Creme halbfest	Betamethason-17-val.	1,22 mg/g	3-6 Monate	>3 Jahre	-
I	O/W-Lotio flüssig	Betamethason-17-val.	1,22 mg/ml	21 Monate	>3 Jahre	kühl aufbewahren
K	O/W-Creme halbfest	Betamethason-17-val.	1,22 mg/g	3 Monate	keine Angabe	-
L	O/W-Lotio flüssig	Betamethason-17-val.	1,22 mg/ml	14 Monate	keine Angabe	-

Tab. 2 Übersicht der untersuchten Fertigarzneimittel

Die Angaben zum Alter und zur Mindesthaltbarkeit erfolgten unter Anwendung der Chargenschlüssel und Herstellerhinweise (73).

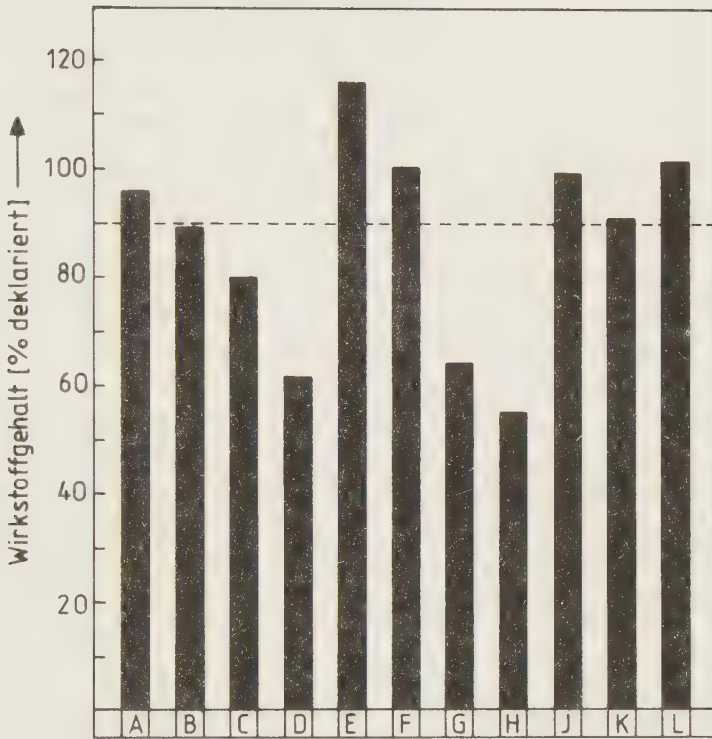


Abb. 3 Gehalt an unzersetztem Corticosteroid in
 11 handelsüblichen O/W-Zubereitungen nach
 Bezug der Präparate vom Hersteller

2. Veränderung des Wirkstoffgehaltes in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden bei corticosteroidhaltigen O/W-Fertigarzneimitteln Wirkstoffmindergehalte von bis zu 45% gefunden. Aufgrund der in den zugehörigen HPLC-Chromatogrammen nachweisbaren Abbauprodukte muß davon ausgegangen werden, daß neben möglicher Wirkstoffunterdosierungen hauptsächlich Stabilitätsverluste dafür verantwortlich waren.

Fragen der Haltbarkeitsfristen und geeigneten Lagertemperaturen für steroidhaltige O/W-Emulsionen sind deshalb von besonderem Interesse.

Da die Forderung einer Schutzlagerung unter 20°C bei der großen Zahl handelsüblicher Präparate eine zu aufwendige Stabilisierungsmaßnahme darstellen würde, wurde auf eine Untersuchung der Lagerfähigkeit der Fertigarzneimittel unter 20°C verzichtet. Die fortschreitende Steroidzersetzung wurde in 11 Handelspräparaten bei Lagertemperaturen von 20°, 25°, 30° und 35°C über einen Lagerzeitraum von zwei Jahren verfolgt.

Bei einigen Präparaten wurde während dieser Lagerzeit die vom Hersteller angegebene Mindesthaltbarkeitsdauer überschritten; diese Beschränkungen waren jedoch nicht auf den Packungen deklariert, sondern wurden der Literatur (73) entnommen.

2.1 Beeinflussung des Wirkstoffgehaltes durch eine Lagertemperatur von 20°C

Bei einer Lagertemperatur von 20°C nahm der Corticosteroidgehalt der Handelspräparate im Laufe von zwei Jahren noch einmal um durchschnittlich 12% vom deklarierten Gehalt ab. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist, waren dabei die einzelnen Abbauraten in den 11 Zubereitungen sehr unterschiedlich. So belief sich der Wirkstoffverlust an Betamethason-17-vale-

Prä- parat	Corticosteroid	Wirkstoffgehalt in % vom deklarierten Gehalt				
		Lagerbeginn	3 Monate	6 Monate	12 Monate	24 Monate
A	Triamcinolon- acetonid	96,0	95,0	95,0	91,3	88,9
B	Triamcinolon- acetonid	89,0	88,8	89,0	85,1	81,0
C	Triamcinolon- acetonid	80,0	79,6	76,2	68,3	58,3
D	Hydrocortison- acetat	61,5	61,5	61,0	54,2	50,1
E	Hydrocortison- acetat	116,0	116,5	113,5	105,2	90,1
F	Hydrocortison	100,4	100,8	99,0	96,6	94,2
G	Dexamethason	64,0	61,9	55,2	49,0	41,8
H	Betamethason- 17-valerat	55,0	52,5	51,6	49,8	45,1
I	Betamethason- 17-valerat	99,2	99,2	99,0	97,5	96,7
K	Betamethason- 17-valerat	91,0	88,5	87,5	84,4	82,0
L	Betamethason- 17-valerat	101,6	101,6	99,2	96,7	93,3

Tab. 3 Abnahme des Wirkstoffgehaltes handelsüblicher
Corticoidcremes im Verlauf einer Lagerung bei 20°C

rat in dem relativ stabilen Präparat I nur auf 2,5%, wogegen der Hydrocortisonacetatgehalt in Präparat E um weitere 25,9% abnahm. Eine ähnlich schlechte Lagerstabilität zeigten die Zubereitungen C und G.

2.2 Beeinflussung des Wirkstoffgehaltes durch eine Lager- temperatur von 25°C

Die Aufbewahrung der Fertigarzneimittel bei 25°C führte im Laufe von zwei Jahren zu einem durchschnittlichen Wirkstoffverlust von 14,8%.

Aus Tabelle 4 ist zu entnehmen, daß die Zersetzungsgeschwindigkeit im Vergleich zur 20°C-Lagerung bei allen Präparaten etwas anstieg, die Tendenz der unterschiedlichen Steroidstabilität in den einzelnen Zubereitungen aber im wesentlichen gleich blieb. Den geringsten Abbau zeigte auch bei dieser Lagertemperatur Präparat I, der größte Wirkstoffverlust mit einer Abnahme von 29,6% innerhalb von zwei Jahren war wiederum bei der Zubereitung E zu verzeichnen.

Prä- parat	Corticosteroid	Wirkstoffgehalt in % vom deklarierten Gehalt				
		Lagerbeginn	3 Monate	6 Monate	12 Monate	24 Monate
A	Triamcinolon- acetonid	96,0	95,0	91,4	87,2	82,4
B	Triamcinolon- acetonid	89,0	87,1	85,8	83,9	80,5
C	Triamcinolon- acetonid	80,0	79,7	75,8	67,7	52,3
D	Hydrocortison- acetat	61,5	57,5	54,5	49,8	46,0
E	Hydrocortison- acetat	116,0	115,2	110,5	102,0	86,4
F	Hydrocortison	100,4	99,4	97,0	95,6	92,3
G	Dexamethason	64,0	61,6	52,0	46,3	38,7
H	Betamethason- 17-valerat	55,0	52,7	52,4	49,2	44,9
I	Betamethason- 17-valerat	99,2	98,4	97,5	97,0	95,6
K	Betamethason- 17-valerat	91,0	85,3	86,1	83,7	80,3
L	Betamethason- 17-valerat	101,6	102,5	98,1	94,4	91,4

Tab. 4 Abnahme des Wirkstoffgehaltes handelsüblicher
Corticoidcremes im Verlauf einer Lagerung bei 25°C

2.3 Beeinflussung des Wirkstoffgehaltes durch eine Lagertemperatur von 30°C

Bei einer Lagertemperatur von 30°C war eine starke Zunahme der Wirkstoffzersetzung in fast allen der untersuchten Handelspräparate festzustellen (Tabelle 5).

Der durchschnittliche Verlust an unzersetztem Corticosteroid betrug nach zweijähriger Lagerzeit 21,5%, wobei diese Zahl im Falle der Lagerung bei 30°C nur den Mittelwert aus 10 untersuchten Fertigarzneimitteln darstellt. Präparat D wurde nicht bei 30° und 35°C gelagert, da nicht genügend Muster zur Verfügung standen.

Die höchste Abbaurate mit 34,0% wurde wiederum bei Präparat E ermittelt.

Besonders auffällig ist, daß in dem bei niedrigeren Lagertemperaturen vergleichsweise recht stabilen Präparat I die Zersetzungsgeschwindigkeit im Vergleich zu der Lagerung bei 20°C um mehr als das Fünffache anstieg.

Präparat F zeigte die geringste Zunahme der Abbaugeschwindigkeit durch höhere Temperaturbelastung. Diese Zubereitung wies als einzige am Ende des zweijährigen Untersuchungszeitraumes trotz der Stressung durch eine Aufbewahrung bei 30°C einen Wirkstoffgehalt von mehr als 90% des deklarierten Wertes auf.

Präparat	Corticosteroid	Wirkstoffgehalt in % vom deklarierten Gehalt				
		Lagerbeginn	3 Monate	6 Monate	12 Monate	24 Monate
A	Triamcinolon-acetonid	96,0	93,1	88,9	86,0	75,2
B	Triamcinolon-acetonid	89,0	87,1	83,9	78,6	70,4
C	Triamcinolon-acetonid	80,0	83,6	67,7	62,0	48,4
E	Hydrocortison-acetat	116,0	110,1	100,5	94,2	82,0
F	Hydrocortison	100,4	99,2	98,0	94,3	90,6
G	Dexamethason	64,0	59,4	50,0	41,4	32,9
H	Betamethason-17-valerat	55,0	52,7	49,0	45,1	41,8
I	Betamethason-17-valerat	99,2	98,4	98,4	94,3	85,8
K	Betamethason-valerat	91,0	78,7	75,4	72,1	67,2
L	Betamethason-17-valerat	101,6	101,6	96,7	90,3	83,2

Tab. 5 Abnahme des Wirkstoffgehaltes handelsüblicher
Corticoidcremes im Verlauf einer Lagerung bei 30°C

2.4 Beeinflussung des Wirkstoffgehaltes durch eine Lager- temperatur von 35°C

Aus Tabelle 6 ist ersichtlich, daß eine weitere Erhöhung der Lagertemperatur auf 35°C nochmals zu einer starken Zunahme der Wirkstoffzersetzungsgeschwindigkeit in den O/W-Cremes führte. Keine der untersuchten Zubereitungen besaß nach zweijähriger Lagerzeit einen unzersetzten Steroidgehalt von 90% des deklarierten Wertes. Die durchschnittliche Abbaurate, die hier wiederum nur den Mittelwert aus 10 untersuchten Handelspräparaten darstellt, lag nach zwei Jahren bei 30,2%. Diese Ergebnisse machen deutlich, daß eine Aufbewahrung bei 35°C für corticosteroidhaltige O/W-Zubereitungen eine zu hohe Streßbelastung darstellt.

Der höchste Wirkstoffverlust ergab sich auch bei 35°C Lager-
temperatur für Präparat E mit 44,3%, wogegen die Zubereitung
F mit 11,8% Abnahme des Hydrocortisongehaltes innerhalb von
zwei Jahren ebenso wie bei der Lagertemperatur von 30°C die
beste Stabilität zeigte.

Prä- parat	Corticosteroid	Wirkstoffgehalt in % vom deklarierten Gehalt				
		Lagerbeginn	3 Monate	6 Monate	12 Monate	24 Monate
A	Triamcinolon- acetonid	96,0	86,0	78,2	71,9	63,1
B	Triamcinolon- acetonid	89,0	77,3	71,9	66,2	58,0
C	Triamcinolon- acetonid	80,0	83,5	59,8	54,1	40,3
E	Hydrocortison- acetat	116,0	104,0	92,2	84,7	71,7
F	Hydrocortison	100,4	99,6	97,1	92,6	88,6
G	Dexamethason	64,0	59,6	47,8	39,1	30,1
H	Betamethason- 17-valerat	55,0	50,1	50,5	41,9	36,9
I	Betamethason- 17-valerat	99,2	95,0	86,9	77,1	67,7
K	Betamethason- 17-valerat	91,0	71,3	66,4	61,5	55,7
L	Betamethason- 17-valerat	101,6	96,7	94,3	83,3	77,8

Tab. 6 Abnahme des Wirkstoffgehaltes handelsüblicher
Corticoidcremes im Verlauf einer Lagerung bei 35°C

2.5 Vergleichende Stabilitätsbeurteilung der untersuchten Corticosteroide

Im Rahmen der Untersuchungen an 11 Handelspräparaten wurde die Stabilität von insgesamt fünf verschiedenen, in der kutanen Therapie verwendeten Corticosteroiden über einen Lagerzeitraum von zwei Jahren verfolgt. Dabei wurde deutlich, daß es schwierig ist, ohne genaue Kenntnis der Grundlagen und Herstellungsbedingungen allgemeingültige Aussagen über Stabilitätsunterschiede dieser Wirkstoffe in O/W-Emulsionen zu treffen.

So zeigte z.B. Triamcinolonacetonid in Präparat C eine hohe Zersetzungsrate bei allen untersuchten Lagertemperaturen. Wie aus Abbildung 4 ersichtlich ist, wurde aber der gleiche Wirkstoff zumindest bei niedrigen Aufbewahrungstemperaturen in den Zubereitungen A und B deutlich langsamer abgebaut. Ein Zusammenhang aus dem unterschiedlichen Alter der Präparate ergibt sich dabei für dieses Ergebnis nicht (vgl. Tabelle 2), wohl aber kann die geringere Dosierung des Präparates C für den prozentual höheren Wirkstoffverlust verantwortlich sein.

Abbildung 5 zeigt, daß die Zersetzung von Betamethason-17-valerat in den einzelnen Präparaten ebenfalls recht unterschiedlich verlief. In dem Fertigarzneimittel I war bei den 20°C- und 25°C-Lagerungen nur ein geringer Abbau des Wirkstoffes zu verzeichnen, wogegen die Zersetzungsrate bei höheren Temperaturen stark anstieg. Während der gleiche Arzneistoff in Zubereitung H schon zu Beginn der Untersuchungen in einem hohen Maße zersetzt vorlag, war dagegen der weitere Abbau innerhalb unseres Untersuchungszeitraumes vergleichsweise weniger temperaturabhängig.

Ein ebenfalls sehr hoher Wirkstoffverlust war nach zweijähriger Lagerzeit bei Präparat G zu verzeichnen; in dieser Zubereitung war der Wirkstoff auch schon zu Beginn der Untersuchungen zu einem großen Anteil zersetzt. Abbildung 6 zeigt den Abbau von Dexamethason in dem betreffenden Handelspräparat in Abhängigkeit von der Lagertemperatur.

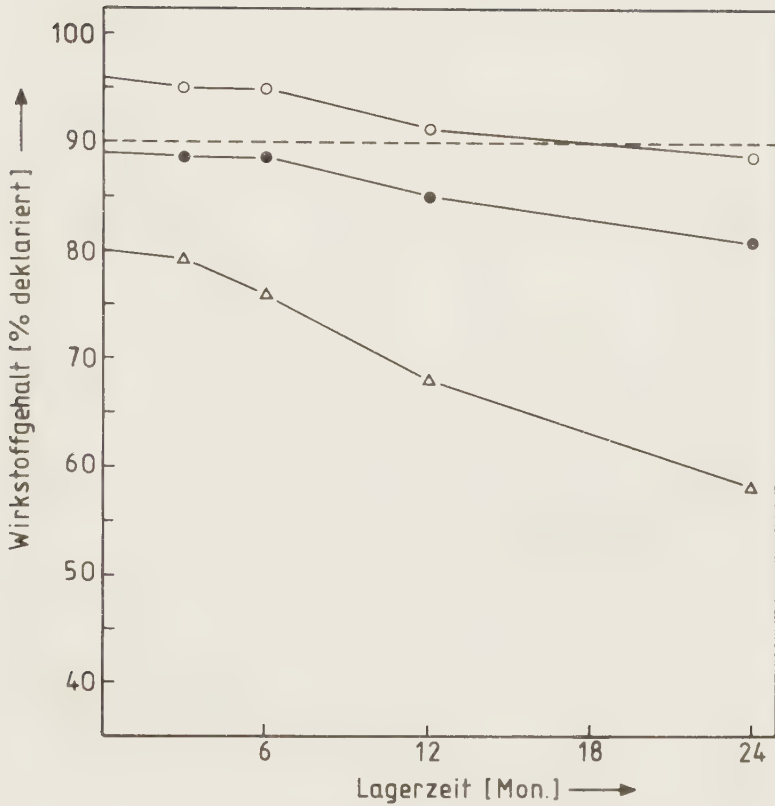


Abb. 4 Abbau von Triamcinolonacetonid in drei Handelspräparaten bei einer Lagertemperatur von 20°C in Abhängigkeit von der Lagerzeit

- o- Präparat A
- Präparat B
- △- Präparat C

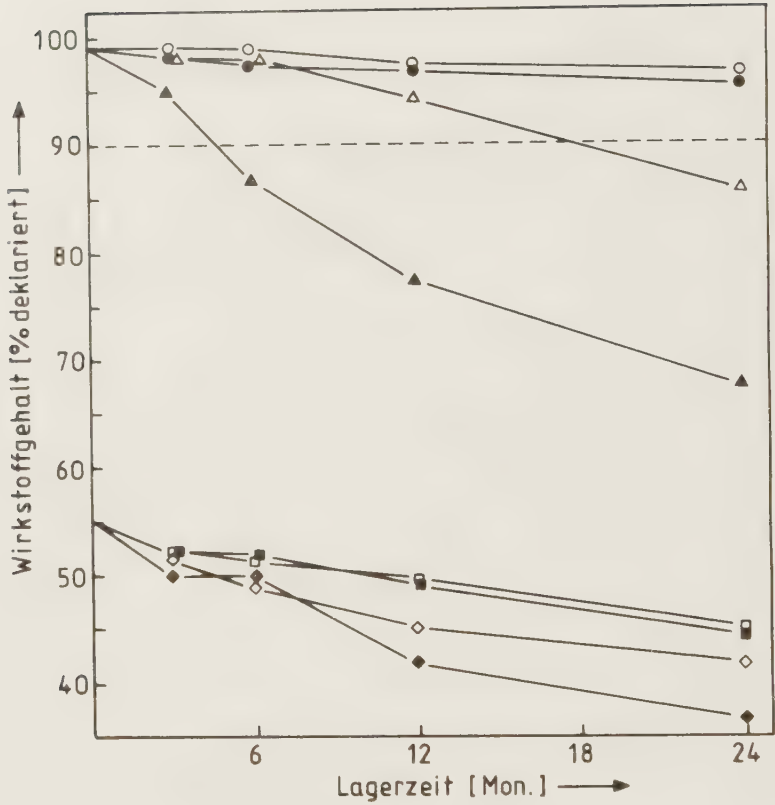


Abb. 5 Abbau von Betamethason-17-valerat in zwei Handelspräparaten in Abhängigkeit von der Lager-temperatur und der Lagerzeit

Präparat I: -○- 20°C -Δ- 30°C
 -●- 25°C -▲- 35°C

Präparat H: -□- 20°C -◇- 30°C
 -■- 25°C -◆- 35°C

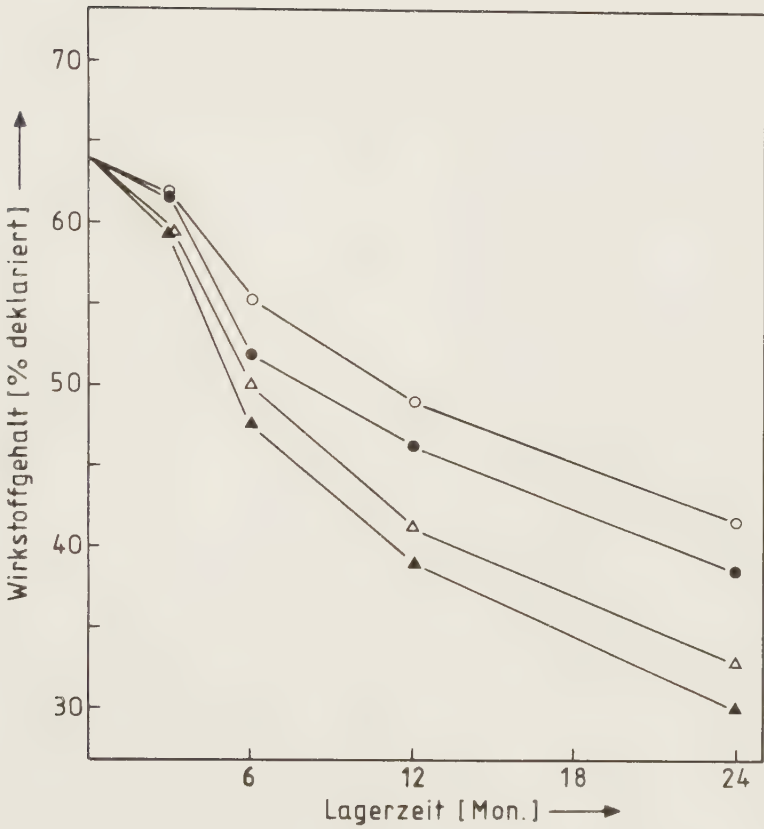


Abb. 6 Abbau von Dexamethason in Handelspräparat G in
Abhängigkeit von der Lagertemperatur und der
Lagerzeit

-o- 20°C

-Δ- 30°C

-●- 25°C

-▲- 35°C

Die Zersetzung von Hydrocortisonacetat verlief in den beiden untersuchten Fertigarzneimitteln D und E sehr rasch und vergleichsweise deutlich schneller als der Abbau von Hydrocortison in dem weitgehend stabilen Präparat F.

Der erste Degradationsschritt des Hydrocortisonacetats, die Hydrolyse zu freiem Hydrocortison (52), ist in Abbildung 7 wiedergegeben. Er verläuft offensichtlich in O/W-Emulsionen besonders rasch.

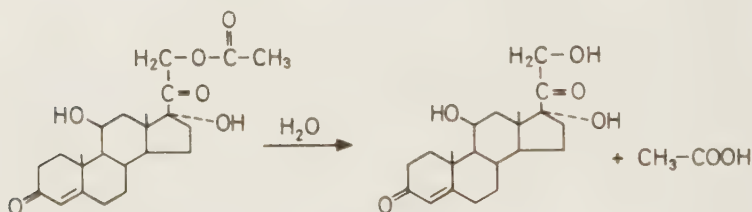


Abb. 7 Hydrolyse des Hydrocortisonacetats

In den zugehörigen HPLC-Chromatogrammen der hydrocortisonacetathaltigen Präparate ließ sich mit zunehmendem Verlust an Steroidester eine steigende Menge an entstandenem Hydrocortison nachweisen. Abbildung 8 zeigt das HPLC-Chromatogramm des Präparates D nach zweijähriger Lagerung bei 20°C. Neben Hydrocortison als Hauptzersetzungsprodukt sind noch zahlreiche weitere neutrale und saure Folgeabbauprodukte zu erkennen. Die Entstehung der sauren Zersetzungsprodukte, die aufgrund ihrer höheren Polarität am Anfang des Chromatogramms erscheinen, ist auf den hohen pH-Wert dieses Präparates zurückzuführen.

Wie aus Abbildung 9 ersichtlich ist, schritt die Zersetzung des Hydrocortisonacetats in dem zu Beginn der Untersuchungen noch deutlich überdosierten Präparat E im Verlauf der Lagerung so schnell fort, daß nach zwei Jahren der unzersetzte prozentuale Wirkstoffgehalt vom deklarierten Gehalt bei allen Lager-temperaturen unter dem des hydrocortisonhaltigen Präparates F lag.

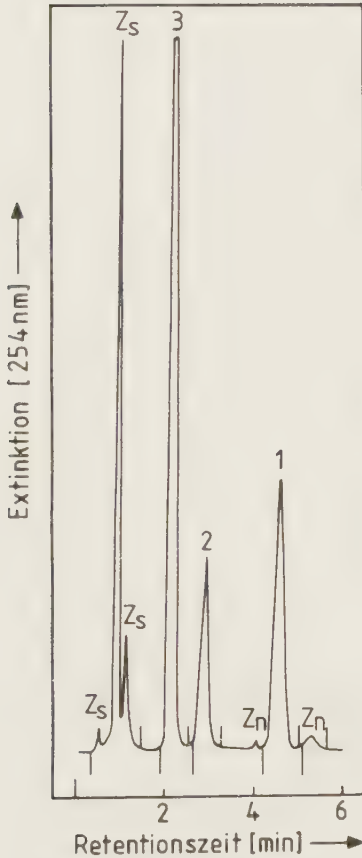


Abb. 8

HPLC-Bestimmung von Hydrocortisonacetat und seinen Zersetzungsprodukten in Präparat D

(Stationäre Phase: Radial-Pak C 18; Mobile Phase: Methanol 60 T, Wasser 39,5 T, Diisopropylether 0,5 T; Durchfluß: 3 ml/min)

1 Hydrocortisonacetat

2 Hydrocortison

3 Konservierungsmittel

Z_s saure Folgezersetzungsprodukte des Hydrocortisons

Z_n neutrale Folgezersetzungsprodukte des Hydrocortisons

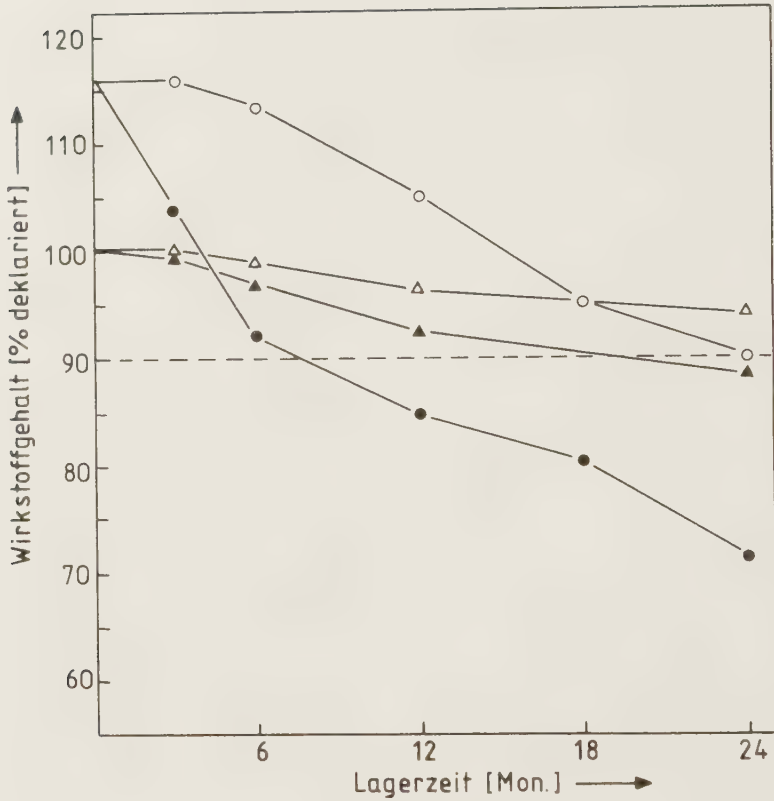


Abb. 9 Vergleich des Abbaus von Hydrocortisonacetat (Präparat E) und Hydrocortison (Präparat F) in Abhängigkeit von der Lagertemperatur und der Lagerzeit

Präparat E: -○- 20°C

-●- 35°C

Präparat F: -△- 20°C

-▲- 35°C

3. Beeinflussung der Partikelgröße von Corticosteroiden in Abhängigkeit von der Lagertemperatur und der Lagerzeit

In flüssigen und halbfesten Arzneiformen mit suspendiertem Wirkstoff muß mit Kristallwachstum während der Lagerung gerechnet werden (74,75). Besondere Bedeutung gewinnt dieses Problem in Zweiphasensystemen, da in solchen Zubereitungen zu erwarten ist, daß ein bestimmter Wirkstoffanteil in zumindest einer der Phasen gelöst vorliegt (76). Bei vorhandener Löslichkeit des Arzneistoffes in der Grundlage aber erfolgt Teilchenwachstum durch Diffusion über die Lösungsphase.

Für viele Corticosteroide ist weiterhin das Auftreten mehrerer polymorpher und pseudopolymorpher Kristallformen beschrieben worden (75, 77-83). Polymorphe Kristalle einer Substanz unterscheiden sich in der Regel in ihren physikalischen Eigenschaften, wie z.B. der Löslichkeit.

Bei Suspendierung einer metastabilen und relativ gut löslichen Modifikation eines Corticosteroids in eine Creme kann eine Umwandlung in die energieärmere, schlechter lösliche Kristallform erfolgen. Dabei entsteht eine übersättigte Lösung und es kommt zu Kristallwachstum (84).

Verschiedene Arbeitskreise (74,75,78) fanden bei der Untersuchung von Prednisolonsalben eine Umwandlung des Steroids in seine pseudopolymorphe Hydratform, die mit erheblichem Teilchenwachstum in der Zubereitung verbunden war. Bei direkter Verarbeitung des schlechter löslichen Prednisolonhydrates war unter Lagerung bei Raumtemperatur kaum ein Kristallwachstum zu verzeichnen (75).

NÜRNBERG und KOHL (85) beobachteten bei der Verarbeitung von Fluprednylidenacetat in ambiphile Cremegrundlagen ein z.T. erhebliches Teilchenwachstum während der Lagerung.

Neben möglicher Polymorphieerscheinungen können aber auch andere Faktoren ein Kristallwachstum in Suspensionssalben hervorrufen. So ist z.B. mit einer Zunahme der Partikelgröße zu rechnen, wenn die Dispersität der Wirkstoffkristalle schon bei Suspendierung in der Grundlage sehr unterschiedlich ist. Die feinsten Arzneistoffpartikel gehen dann aufgrund ihrer

größeren thermodynamischen Aktivität bevorzugt in Lösung und kristallisieren teilweise an größeren Teilchen wieder aus. Bei erhöhter Lagertemperatur ist ebenfalls ein verstärktes Teilchenwachstum zu erwarten, weil die durch die Temperaturerhöhung gesteigerte Löslichkeit des Wirkstoffes in der Grundlage nach anschließender Abkühlung übersättigte Lösungen ergibt.

Da eine Zunahme der Partikelgröße Einfluß auf die chemische und physikalische Stabilität corticosteroidhaltiger Dermatika haben kann sowie erhebliche Auswirkungen auf die Bioverfügbarkeit des Arzneistoffes besitzt, wurden an den 11 in die vorliegenden Untersuchungen einbezogenen Handelspräparaten Veränderungen der Kristallgröße in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur überprüft. Hierfür wurden in Anlehnung an die Methoden der Pharm. Helv. VI und des 2. AB-DDR mikroskopische Bestimmungen der Teilchengrößen in den Zubereitungen vorgenommen.

Wie aus Tabelle 7 hervorgeht, war die Dispersität der Wirkstoffkristalle in den einzelnen Handelspräparaten schon zu Beginn der Untersuchungen recht unterschiedlich. In einigen Zubereitungen waren zudem Kristallnester erkennbar. Zu diesem Zeitpunkt entsprachen dennoch alle Fertigarzneimittel den (für Corticosteroide zu großzügigen) Forderungen der Pharm. Helv. VI, wonach kein Teilchen größer als 200 μm sein darf und 90% der gemessenen Teilchen <170 μm sein sollen. Bis auf die Zubereitungen D und G erfüllten auch alle Präparate die weitergehenden Anforderungen des 2. AB-DDR, wobei nach dieser Vorschrift kein Partikel eine größere Abmessung als 60 μm haben soll und bei 80% der Teilchen keine größere Abmessung als 40 μm erkennbar sein darf.

Wie aus Tabelle 7 ersichtlich, war nach zweijähriger Lagerung bei allen Handelspräparaten ein Teilchenwachstum zu verzeichnen, das mit steigender Lagertemperatur zunahm. So entsprachen nach Lagerung bei 20°C noch zehn Zubereitungen den Forderungen des Schweizer Arzneibuches, sieben den Vorschriften des 2. AB-DDR. Nach einer Stressung bei 35°C erfüllten dagegen nur noch drei Handelspräparate die Anforderungen der

Prä- parat	Teilchengröße in μm									
	Lagerbeginn		20°C		25°C		30°C		35°C	
	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y
A	<1	<1	<1-5	18	<1-5	22	20-40	74	45-80	190
B	<1	2	1-15	22	5-25	84	15-40	220	35-90	485
C	1-10	20	5-15	28	10-35	65	10-50	82	20-90	260
D	20-70	120	50-120	226	50-140	285	-	-	-	-
E	<1	4	5-15	15	5-15	24	10-25	62	10-35	126
F	<1-10	40	<1-25	65	5-25	84	5-30	140	5-30	162
G	35-60	110	40-85	140	40-85	152	60-120	198	60-140	360
H	<1	1	<1-20	26	5-20	38	40-70	280	60-100	210
I	<1	5	1-20	56	5-30	80	20-60	122	40-95	224
K	<1	12	1-20	70	5-25	196	10-80	245	20-80	272
L	<1	1	1-10	18	1-15	15	5-35	260	30-90	315

Tab. 7 Zunahme der Partikelgröße in corticosteroidhaltigen O/W-Fertigarzneimitteln nach zweijähriger Lagerung bei Lagertemperaturen von 20°, 25°, 30° und 35°C

x Größenbereich von 90% der Partikel

(Teilchengröße $\leq 1-100 \mu\text{m}$ Einteilung in Klassenbreiten von $5 \mu\text{m}$

Teilchengröße $> 100 \mu\text{m}$ Einteilung in Klassenbreiten von $10 \mu\text{m}$)

y größtes jeweils nachgewiesenes Partikel

Pharm. Helv. VI, keines genügte der Vorschrift des 2. AB-DDR.

Bei Lagertemperaturen von 30° und 35°C traten in verschiedenen Fällen sehr lange, spitze Kristallnadeln auf, die in einigen Zubereitungen Abmessungen von mehr als $300 \mu\text{m}$ aufwiesen.

In allen Handelspräparaten waren Kristalle sowohl in der äußeren Wasserphase als auch eingeschlossen in die dispersen Öl-

tröpfchen erkennbar. Oftmals war die Kristallform im lipophilen Medium anders; dort fanden sich keine Kristallnadeln.

In einigen Fällen kann nicht ausgeschlossen werden, daß auch Kristallagglomerate mikroskopisch ausgemessen wurden, da ihre Differenzierung von Einzelkristallen oftmals schwierig war.

4. Veränderungen physikalisch-chemischer Eigenschaften der Grundlagen während der Lagerung

Dermatische Grundlagen dienen nicht nur als Vehikel für die enthaltenen Arzneistoffe, sondern sind in der Regel selbst an der therapeutischen Wirksamkeit einer Zubereitung wesentlich beteiligt (2, 86-90). Eine ungeeignete Grundlage kann deshalb, auch wenn sie ein wirksames Glucocorticoid enthält, zu einer Verschlechterung der Dermatose führen (5).

Auch die Wirkungsintensität eines in einem Dermatikum enthaltenen Arzneistoffes hängt wesentlich von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Grundlage ab, da diese die Liberation des Wirkstoffes und seine Penetration in die Haut beeinflusst (91-93). BARRY und WOODFORD (12,14) verglichen die Wirkungsintensität verschiedener Hydrocortisoncremes mittels Vasokonstriktionstestes. Dabei erwies sich eine Creme mit 0,1% Steroidgehalt als wirksamer als einige Zubereitungen mit 1%-iger Arzneistoffkonzentration. Die Autoren führen dies auf die unterschiedliche Freisetzung des Wirkstoffes aus den verschiedenen O/W-Grundlagen zurück.

Da lagerungsbedingte Veränderungen der Grundlagen negative Auswirkungen auf die Wirkstofffreisetzung und auf die Arzneistoffstabilität haben können, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit nachfolgende Untersuchungen zur physikalisch-chemischen Stabilität der O/W-Grundlagen handelsüblicher Corticoidzubereitungen durchgeführt. Ziel dabei war es festzustellen, inwieweit ein Zusammenhang zwischen Wirkstoffzersetzung und Grundlagenveränderung in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur besteht.

4.1 Veränderungen der Wasserphase

Bestimmung des Wassergehaltes

Da bei allen untersuchten Fertigarzneimitteln Wasser die Außenphase bildet, ließ sich der Wassergehalt der Präparate über den Trocknungsverlust mit Hilfe der Planwägegläschenmethode ermitteln. Der Wassergehalt wurde zu Untersuchungsbeginn sowie nach ein- und zweijähriger Lagerzeit bei den vier Lagertemperaturen bestimmt.

Wie Tabelle 8 zu entnehmen ist, liegt der Wassergehalt der halbfesten Cremezubereitungen etwa zwischen 72 und 88%, die drei flüssigen Lotiones enthalten zwischen 96 und 97% Wasser.

Präparat	Zubereitung	Wassergehalt in %
A	O/W-Creme	88,03
B	O/W-Creme	80,09
C	O/W-Creme	80,49
D	O/W-Creme	73,89
E	O/W-Creme	81,01
F	O/W-Lotio	96,74
G	O/W-Creme	77,04
H	O/W-Creme	75,36
I	O/W-Lotio	96,65
K	O/W-Creme	72,64
L	O/W-Lotio	96,10

Tab. 8 Wassergehalt corticosteroidhaltiger
O/W-Fertigarzneimittel

Wie zu erwarten war, ergab sich bei keiner der in Aluminiumtuben verpackten Cremezubereitungen eine signifikante Abnahme des Wassergehaltes während der Lagerung.

Tabelle 9 zeigt, daß auch bei den in Kunststofffläschchen abgefüllten O/W-Lotiones nach zweijähriger Lagerzeit nur ein geringfügiger Wasserverlust auftrat, der bei 35°C Lagertemperatur etwa zwischen 0,7 und 1,6% lag.

Prä- parat	W a s s e r g e h a l t i n %				
	Lagerbeginn	Lagerzeit 24 Monate			
		20°C	25°C	30°C	35°C
F	96,74	95,89	95,19	95,89	95,15
I	96,65	96,65	95,96	95,64	95,91
L	96,10	96,50	95,91	96,15	95,41

Tab. 9 Änderung des Wassergehaltes handelsüblicher
Corticoidlotiones in Abhängigkeit von der
Lagertemperatur

Untersuchung des pH-Wertes der Wasserphase

Wie schon ausführlich beschrieben, wird die Stabilität aller Corticosteroide im wäßrigen Medium u.a. ganz wesentlich vom pH-Wert beeinflusst. In Abhängigkeit vom pH-Wert und weiterer, die Zersetzung katalysierender Faktoren entstehen beim Steroidabbau sowohl neutrale als auch saure Zwischen- und Endprodukte.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden die pH-Werte der 11 in die Arbeit einbezogenen corticosteroidhaltigen O/W-Fertigarzneimittel bestimmt und ihre Veränderung in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur verfolgt.

Wie aus Tabelle 10 hervorgeht, waren die pH-Werte der einzelnen Präparate schon zu Lagerbeginn sehr unterschiedlich und schwankten in einem Bereich von fast vier pH-Einheiten.

Für die drei Fertigarzneimittel mit Triamcinolonacetonid (Präparate A-C) ließ sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen pH-Wert und Wirkstoffstabilität nachweisen. Das Steroid zeigt im wäßrigen Medium die geringste Zersetzungsrate

Prä- parat	Lager- beginn	Lagerzeit 12 Monate				Lagerzeit 24 Monate			
		20°C	25°C	30°C	35°C	20°C	25°C	30°C	35°C
A	4,4	4,4	4,4	4,2	4,1	4,4	-	-	3,8
B	5,4	5,2	5,0	5,0	4,7	4,9	-	-	3,7
C	5,7	5,7	5,6	5,4	5,0	5,6	-	-	4,6
D	8,2	8,0	7,8	-	-	-	6,9	-	-
E	4,2	4,0	4,0	4,0	3,9	3,9	3,9	3,7	3,6
F	4,3	4,2	4,2	3,9	3,9	4,1	3,9	3,7	3,6
G	6,9	6,6	6,4	5,8	5,3	6,1	-	5,1	4,8
H	4,4	4,4	4,4	4,2	4,0	4,4	-	-	3,5
I	5,2	5,2	5,2	5,2	5,2	5,1	5,1	5,1	5,1
K	4,8	4,8	4,7	4,7	4,5	4,7	4,5	4,4	4,0
L	5,1	5,0	5,0	4,8	4,7	4,9	4,7	4,6	4,4

Tab. 10 Veränderung des pH-Wertes handelsüblicher Corticoid-cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur und der Lagerzeit

etwa zwischen pH 3,4 und 4,0 (66,67). Präparat A, welches diesem pH-Bereich am nächsten kommt, erwies sich am stabilsten.

Bei den Handelspräparaten D und E, die beide Hydrocortison-acetat enthalten, bestand zu Lagerbeginn ein Unterschied im pH-Wert der Wasserphasen von vier pH-Einheiten. Trotzdem zeigten beide Zubereitungen gleichermaßen eine sehr hohe Wirkstoffzersetzungsgeschwindigkeit. Dieses Ergebnis ist dadurch zu erklären, daß der erste Abbauschritt des Steroid-esters, nämlich die Hydrolyse zu Hydrocortison, sowohl säure- als auch basenkatalysiert ist (52).

Das relativ stabile Präparat F, dessen Wirkstoff Hydrocortison in wäßrigen Medien die höchste Stabilität bei pH 2,5 bis 3,5 besitzt (17), kommt diesem Wert weitgehend nahe. Die

starke Zersetzung von Dexamethason in Präparat G ist dagegen sicherlich durch den hohen pH-Wert dieser Zubereitung mitverursacht. Dexamethason ist am stabilsten im pH-Bereich zwischen 3,0 und 3,5 (17).

Bei den vier Fertigarzneimitteln mit Betamethason-17-valerat (Präparate H-L) ist kein deutlicher Zusammenhang zwischen den pH-Werten ihrer Wasserphasen und der ermittelten Wirkstoffstabilität zu erkennen. Hier müssen auch andere Faktoren an der unterschiedlichen Zersetzungsgeschwindigkeit beteiligt sein. Das pH-Optimum für diesen Wirkstoff in wäßriger Umgebung liegt bei 3,5 (62).

Weiterhin ist aus Tabelle 10 ersichtlich, daß mit Ausnahme von Präparat I alle Zubereitungen unabhängig vom Ausgangs-pH-Wert mit zunehmender Lagerzeit und steigender Lagertemperatur eine mehr oder minder ausgeprägte Verschiebung des pH-Wertes ins Saurere zeigten. Es ergab sich also mit wenigen Ausnahmen ein deutlicher Zusammenhang zwischen zunehmender Steroidzerersetzung und Abnahme des pH-Wertes der Wasserphase. Dies deutet auf die Bildung saurer Zersetzungsprodukte hin, welche auch in den zugehörigen HPLC-Chromatogrammen nachweisbar waren.

4.2 Veränderungen von Konsistenz und rheologischen Eigenschaften

Für die Applikation eines Dermatikums ist seine Konsistenz von erheblicher Bedeutung. So läßt die Spreitfähigkeit einer halbfesten Emulsion auf der Haut bei Erhöhung der Fließgrenze bzw. der Viskosität nach (94-96). Neben einer gut streichbaren Konsistenz sollte eine Cremezubereitung auch ein bestimmtes Maß an thixotropen Eigenschaften besitzen. Dadurch lassen sich ein gleichmäßiges Auftragen und die Bildung eines homogenen Filmes am Applikationsort mit einer guten Haftung des Präparates auf der Haut verbinden (97,98).

Weiterhin besteht ein Zusammenhang zwischen den rheologischen Eigenschaften eines Dermatikums und seiner Arzneistofffreisetzung (99-101). So fanden ERÖS und UGRI-HUNYADVARY (102)

bei Untersuchungen an 150 verschiedenen Salbengrundlagen einen linearen Zusammenhang zwischen dem Anstieg des Logarithmus der Viskosität und der Abnahme der freigesetzten Wirkstoffmenge.

Über die Nachhärtung halbfester Zweiphasensysteme existieren zahlreiche Untersuchungen. Die Ursachen sind u.a. in der Herstellungstechnologie, in strukturellen Veränderungen der Ölphase, Wechselwirkungen zwischen Wirk- und Hilfsstoffen sowie in Kristallwachstum oder -ausscheidungen zu suchen (95,97, 103-106). Dagegen liegen über die Abhängigkeit der Nachhärtung von der Lagertemperatur vergleichsweise wenige Arbeiten vor (107). Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es daher, mögliche Auswirkungen der Lagertemperatur in Abhängigkeit von der Lagerzeit auf die rheologischen Eigenschaften steroidhaltiger O/W-Fertigarzneimittel abzuklären.

Einfluß der Lagerung auf die Konsistenz

Die Methode zur Konsistenzbestimmung halbfester Zubereitungen mittels Penetrometermessung gestattet auf einfache Weise, Veränderungen der Strukturfestigkeit von Salben und Cremes zu erkennen (108,109). Sie ist als Qualitätsmerkmal zur Beurteilung von Vaseline in die USP XX und die Pharm. Helv. VI aufgenommen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde mittels der Mikrokonus-Methode nach Klein die Konsistenzänderung fünf handelsüblicher Corticoidcremes über einen Lagerzeitraum von 18 Monaten verfolgt.

Aus Tabelle 11 ist ersichtlich, daß die Nachhärtung halbfester O/W-Emulsionen wesentlich von der Lagertemperatur beeinflusst wird. Zwar zeigten die Präparate auch bei einer Lagerung bei 20°C eine Tendenz zur Verfestigung, bei Erhöhung der Aufbewahrungstemperatur stieg jedoch die Konsistenz aller Zubereitungen weiterhin deutlich an. Diese Veränderung war bei allen untersuchten Fertigarzneimitteln gleich, das Ausmaß der Nachhärtung zeigte dagegen Unterschiede. So bewirkte bei Präparat A bereits die Lagertemperaturerhöhung von 20°C auf 25°C

Prä- parat	E i n s i n k t i e f e [0.1 mm]												
	Lager- beginn	Lagerzeit 6 Monate				Lagerzeit 12 Monate				Lagerzeit 18 Monate			
		20°C	25°C	30°C	35°C	20°C	25°C	30°C	35°C	20°C	25°C	30°C	35°C
A	210	207	196	189	181	204	178	178	177	202	175	173	173
C	117	112	106	99	93	110	101	94	(98)	108	101	91	-
E	118	114	114	111	99	110	107	103	(90)	105	103	99	-
H	179	177	177	177	176	176	177	176	174	175	175	172	170
K	185	183	-	-	180	179	-	-	177	178	-	-	173

Tab. 11 Einfluß von Lagertemperatur und Lagerzeit auf die Konsistenz corticosteroidhaltiger O/W-Fertigarzneimittel

Meßtemperatur: 20°C ± 0,5°C

Mittelwerte aus je 4 Messungen

eine ausgeprägte Konsistenzzunahme, wogegen sich bei Präparat H erst höhere Temperaturen auf die Verfestigung auswirkten und diese Zubereitung insgesamt konsistenzstabiler war.

Die Fertigarzneimittel C und E waren nach einjähriger Lagerung bei 35°C inhomogen, wodurch sich eine starke Streuung der Penetrometerwerte ergab. Die zugehörigen Meßwerte sind daher in Tabelle 11 in Klammern gesetzt.

Einfluß der Lagerung auf die rheologischen Eigenschaften

Im Rahmen der Untersuchung physikalisch-chemischer Eigenschaften der O/W-Grundlagen wurden mit dem Rotationsviskosimeter die Fließkurven der 11 in die Arbeit einbezogenen Fertigarzneimittel aufgenommen. Die Bestimmung erfolgte zu Lagerbeginn sowie nach zweijähriger Lagerung in Abhängigkeit von der Lagertemperatur.

Alle halbfesten Cremes zeigten plastisch-thixotropes Fließverhalten, die drei flüssigen Lotiones ergaben pseudoplastische Fließkurven ohne Thixotropieeffekt.

In Tabelle 12 sind die Quasiviskositätswerte η_Q der Fertig-arzneimittel bei der höchsten untersuchten Drehzahl ($n = 256$) angegeben. Wie aus der Aufstellung ersichtlich ist, nahm die Quasiviskosität der halbfesten Cremezubereitungen in Abhängigkeit von der Lagerzeit und der Lagertemperatur zu. Die Resultate zeigten weitgehende Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Penetrationsmessungen.

Wie zu erwarten war, ergab sich bei den flüssigen, pseudo-plastischen Lotiones, deren Wassergehalt über 96% liegt, keine signifikante Viskositätserhöhung während der Lagerung.

Mit Ausnahme von Präparat C wurde bei allen untersuchten Cremes eine Zunahme der Thixotropie während der Lagerung festgestellt; sie war umso größer, je höher die Aufbewahrungstemperatur lag. Das Fertigarzneimittel C besaß schon zu Lagerbeginn einen sehr ausgeprägten Thixotropieeffekt, der sich während des Untersuchungszeitraumes bei allen Lagertemperaturen nur unwesentlich veränderte.

In Abbildung 10 ist am Beispiel des Präparates G eine typische Veränderung der Fließeigenschaften während der Lagerung zu erkennen.

Prä- parat	Q u a s i v i s k o s i t ä t η_0 [mPa·s]				
	Lagerbeginn	Lagerzeit 2 Jahre			
		20°C	25°C	30°C	35°C
A	777,9	819,8	1001,6	1054,0	(-)*
B	804,8	909,0	949,2	970,1	1031,3
C	932,4	970,1	1040,0	1071,5	(-)*
D	1158,2	-	-	-	-
E	952,1	1005,1	1011,2	1036,6	(-)*
F	147,2	148,5	149,5	147,7	150,3
G	431,9	506,9	576,8	847,8	961,4
H	765,6	779,6	812,8	860,0	874,0
I	147,2	147,7	148,5	149,5	149,5
K	539,8	694,0	751,6	800,6	821,6
L	206,1	206,3	208,0	207,1	208,0

Tab. 12 Einfluß der Lagertemperatur auf die Quasi-
viskosität corticosteroidhaltiger O/W-Fertig-
arzneimittel während zweijähriger Lagerung

Schergefälle D: $199,7 \text{ [s}^{-1}\text{]}$ ($n = 256$)

Meßtemperatur : $20^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$

*Zubereitungen gebrochen oder inhomogen

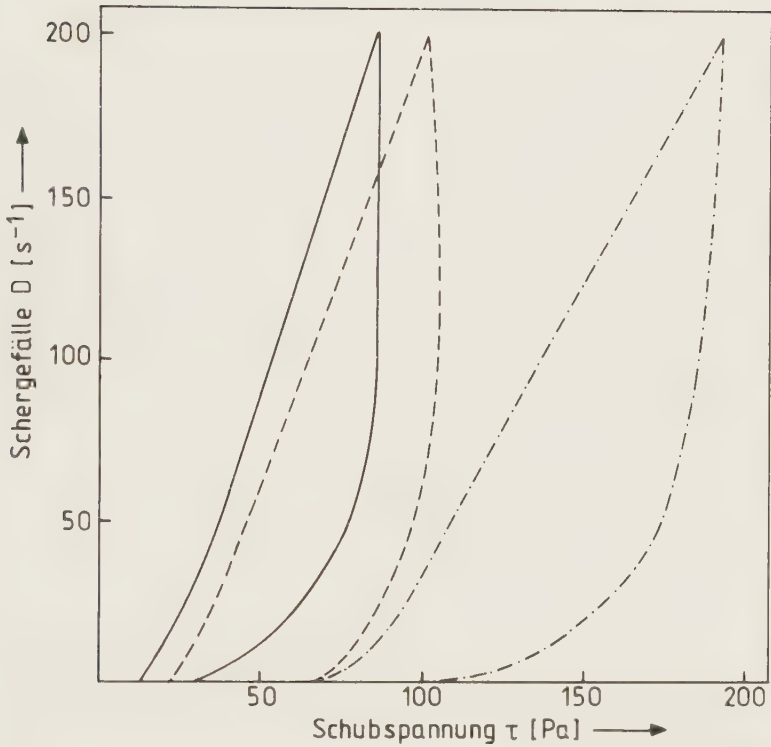


Abb. 10 Veränderung der Fließeigenschaften in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur am Beispiel von Präparat G

- Lagerbeginn
- - - - Lagerzeit 2 Jahre bei 20°C
- . - . Lagerzeit 2 Jahre bei 35°C

5. Untersuchung organoleptisch wahrnehmbarer Veränderungen

Das DAB 8 fordert ebenso wie die Pharm. Helv. VI für Dermatika eine gleichmäßige Beschaffenheit und das Freisein von ranzigem Geruch.

Während ein unangenehmer Geruch in der Regel durch Autoxidationsvorgänge oder mikrobiellen Befall hervorgerufen wird, können für eine nicht mehr gleichmäßige Beschaffenheit sehr verschiedene Ursachen verantwortlich sein (70,110,111):

- **I n h o m o g e n i t ä t** kann bei Emulsionen infolge ungenügender Stabilisierungsmaßnahmen, falscher Lagerbedingungen, durch Inkompatibilitäten von Wirk- und Hilfsstoffen oder aufgrund von Unverträglichkeiten mit dem Verpackungsmaterial auftreten.
- **E i n e k ö r n i g e S t r u k t u r** kann durch Rekristallisationsvorgänge oder Inkompatibilitäten suspendierter Wirkstoffe hervorgerufen werden.
- **V e r f ä r b u n g e n** entstehen oftmals ebenfalls infolge von Inkompatibilitäten oder Verpackungsmängeln.
- **Z u m A u s t r o c k n e n** von O/W-Emulsionen kann es bei ungenügender Verpackungs- oder Verschlusdichte kommen; diese Erscheinung läßt sich besonders häufig im Bereich der Tubenöffnung beobachten.
- **K o n s i s t e n z e r h ö h u n g e n** können durch zahlreiche chemische und physikalische Vorgänge hervorgerufen werden (vgl. 4.2).

Um Aufschluß über organoleptisch wahrnehmbare Veränderungen der Handelspräparate in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur zu erhalten, wurden die 11 in die Untersuchungen einbezogenen Fertigarzneimittel anhand des Prüfschemas nach THOMA und Mitarbeitern (111) nach verschiedenen Aufbewahrungszeiten einer Sinnesprüfung unterzogen.

Wie aus Tabelle 13 ersichtlich ist, erfüllten zu Beginn der Untersuchungen drei der elf Handelspräparate die Forderung nach einer gleichmäßigen Beschaffenheit nicht, sie wirkten

Beanstandungen	Zahl der beanstandeten Präparate				
	Lager- beginn	Lagerzeit 2 Jahre			
		20°C	25°C	30°C	35°C
Leichte Inhomogenität	3	4	4	2	2
Starke Inhomogenität	-	-	-	2	2
Lufteinschlüsse	3	3	3	3	3
Farbveränderungen	-	1	1	2	2
Unangenehmer Geruch	-	-	-	-	-
Hohlräume in der Tube	3	3	3	3	3
Verhärtung	-	1	2	3	5

Tab. 13 Häufigkeit auftretender Mängel der äußeren Beschaffenheit bei corticosteroidhaltigen O/W-Fertigarzneimitteln
(Anzahl der untersuchten Präparate: 11)

inhomogen. Drei weitere Präparate zeigten beim Herauspressen aus der Tube größere Lufteinschlüsse im Salbenstrang. Ein unangenehmer Geruch war bei keiner Zubereitung festzustellen. Ebenfalls bei drei Präparaten fanden sich große Leerräume in den Tuben, wobei dies in einem Fall vom Hersteller auf dem Beipackzettel mit dem Hinweis auf "technische Gründe" vermerkt war.

Wie aus Tabelle 13 weiterhin hervorgeht, nahmen die Beanstandungen im Verlauf der zweijährigen Lagerung zu. Besonders bei höheren Lagertemperaturen traten vermehrt Inhomogenitäten sowie organoleptisch wahrnehmbare Verhärtungen der Zubereitungen auf. Bei 20° und 25°C Lagertemperatur zeigte ein Präparat Farbveränderungen, unter den Streßbedingungen der Lagerung bei 30° und 35°C kam ein weiteres hinzu.

6. Schlußfolgerungen für die pharmazeutische Praxis

Die vorliegenden Untersuchungsbefunde an 11 corticosteroidhaltigen O/W-Fertigarzneimitteln machen die Problematik der Wirkstoffstabilität in solchen Zubereitungen deutlich. Andererseits zeigen die Ergebnisse auch, daß es in der industriellen Praxis durchaus möglich ist, über einen langen Lagerzeitraum haltbare Produkte zu entwickeln.

Im Entwurf der APV-Richtlinie "Haltbarkeit und Stabilitätsprüfung von Arzneimitteln" (112) wird der Begriff der Haltbarkeit folgendermaßen definiert:

"Haltbarkeit bedeutet spezifikationsgerechte Qualität des Arzneimittels bis zum Ende der vom Hersteller festgelegten Laufzeit.

Die Qualität des Arzneimittels wird dabei durch den Wirkstoffgehalt und die Reinheit, die organoleptisch wahrnehmbaren, physikalisch-chemischen und mikrobiologischen Eigenschaften bestimmt.

Der Wirkstoffgehalt eines Arzneimittels soll bis zum Ende der Laufzeit 90% des deklarierten Wertes nicht unterschreiten."

Obwohl keines der untersuchten Präparate ein Verfalldatum trug, konnte das ungefähre Alter aller Zubereitungen sowie bei acht Produkten eine vom Hersteller vertretene Mindesthaltbarkeit über die Chargennummern der Literatur entnommen werden (73).

Nach dem 2. AMG (113) müssen Präparate ohne Verfalldatum, die nach dem 1.1.1978 zugelassen wurden, länger als drei Jahre haltbar sein. Arzneimittel, die vor Inkrafttreten dieses Gesetzes registriert wurden, müssen dagegen nur ein Verfalldatum tragen, wenn sie nicht länger als zwei Jahre haltbar sind (114,115).

Bei Zugrundelegung der Herstellerangaben bzw. der Forderungen des Arzneimittelgesetzes lagen zu Beginn der Untersuchungen zehn der elf Handelspräparate innerhalb ihrer Laufzeiten, d.h. sie hätten mindestens 90% des deklarierten Wirkstoffgehaltes enthalten müssen. Neben der vom Hersteller schon mit über-

schrittener Laufzeit gelieferten Zubereitung erfüllten aber auch vier weitere Präparate diese Forderung der Wirkstoffstabilität nicht.

Nach zweijähriger Lagerung lagen noch sieben Fertigarzneimittel innerhalb der angegebenen Haltbarkeitsfristen. Nach einer Lagerung bei 20°C besaßen davon nur zwei Präparate einen Wirkstoffgehalt über 90%, wogegen zwei andere Zubereitungen, deren Laufzeiten eigentlich überschritten waren, sich ebenfalls noch als haltbar im Sinne der oben angegebenen Definition erwiesen. So enthielt Präparat I, das zu diesem Zeitpunkt fast vier Jahre alt war, noch 96,7% des deklarierten Gehaltes.

Aus den Untersuchungsergebnissen wird ersichtlich, daß aufgrund der starken Temperaturabhängigkeit der Corticosteroidzersetzungsgeschwindigkeit Lagertemperaturen von 30°C und höher in der Praxis auch für kurze Zeiträume unbedingt vermieden werden müssen. Unter derartigen Lagerbedingungen ist außerdem mit so starkem Kristallwachstum zu rechnen, daß negative Auswirkungen auf die Verfügbarkeit der Wirkstoffe zu erwarten sind. Ferner können mögliche Reizungen der Haut nicht ausgeschlossen werden (116).

NÜRNBERG und KOHL (85) sowie KAIHO und Mitarbeiter (78) fanden durch Zugabe geeigneter Kolloide wie z.B. Methylcellulose oder Hydroxypropylcellulose zu corticosteroidhaltigen O/W-Emulsionsgrundlagen eine Möglichkeit zur Kristallisationsinhibierung. Bei sieben der untersuchten Handelspräparate, von welchen die qualitativen Zusammensetzungen der Grundlagen bekannt sind (70), ist kein entsprechender Kristallisationsverzögerer deklariert.

Einer besonderen Überlegung bedarf die Frage der Forderung nach einer Schutzlagerung "Nicht über 20°C lagern" (+2 bis +20°C) (112,117). Prinzipiell sollte die Zahl der so zu lagernden Arzneimittel möglichst begrenzt werden, da die Notwendigkeit separierter Aufbewahrung ein Handhabungsproblem für die Praxis darstellt (110).

Der Wirkstoffmehrerlust der Lagerung bei 25°C betrug innerhalb von zwei Jahren im Vergleich zur 20°C-Lagerung bei den

untersuchten Präparaten durchschnittlich 2,8%. Dieser relativ geringe Durchschnittswert ist jedoch nicht allzu aussagekräftig, da die Abbauraten der einzelnen Zubereitungen in diesem Temperaturintervall recht unterschiedlich waren. So betrug die Differenz des Wirkstoffverlustes bei einem Präparat 6,5%, bei einer anderen Zubereitung nur 0,2%. Im ersten Fall scheint die Forderung einer Schutzlagerung demnach durchaus gerechtfertigt - andererseits sollen Lagerungshinweise kein Ersatz für eine optimale Stabilisierung und Herstellung sein (110).

Diskutabel erscheint in diesem Zusammenhang der Vorschlag von WOLFF (118), der den für die Apotheke praktikableren Lagerungshinweis "Nicht über 22-23°C lagern" einführen möchte.

Ein begrenzter Herstellungs- und Stabilitätszuschlag zur Verlängerung der Laufzeit von Corticoidexterna erscheint sinnvoll.

Die im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse machen ein offen deklariertes Verfalldatum für corticosteroidhaltige O/W-Fertigarzneimittel notwendig.

Da der EG-Ministerrat 1983 eine Kommissionsvorlage zur Änderung der bestehenden Richtlinien über die Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für Arzneispezialitäten verabschiedet hat (114), zu der auch eine generelle Angabe des Verfalldatums für Fertigarzneimittel gehört, wird diese Forderung in absehbarer Zeit durch den Gesetzgeber eine Regelung finden.

II. Untersuchungen zur Instabilität und Stabilisierung von Corticoidcremes

Wie die Untersuchungen an 11 handelsüblichen Corticoidexterna deutlich gemacht haben, treten Stabilitätsverluste der Corticosteroide in O/W-Emulsionen in ganz unterschiedlichem Ausmaß auf.

Die überwiegende Zahl der Arbeiten, die sich mit der quantitativen Bestimmung von Steroiden aus Dermatika und teilweise auch mit dem Nachweis ihrer Abbauprodukte befaßt, beschreibt dabei arzneimittelanalytische Methoden und Ergebnisse, ohne näher auf die Ursachen der Wirkstoffinstabilitäten einzugehen (71,72,119,120). EL-SAYED (29) führt den Abbau von Hydrocortison in Methacrylsäurepolymeren zur externen Anwendung auf Verunreinigungen mit leicht reduzierbaren Verbindungen und Schwermetallionen zurück. SATO und Mitarbeiter (45) fanden einen Zusammenhang zwischen erhöhter Peroxidzahl und verminderter Steroidstabilität in W/O-Emulsionsgrundlagen. ROTHLEY (18) konnte bei Untersuchungen an Prednisolon in einem wasserfreien Kohlenwasserstoffgel die direkte Beteiligung des in der Grundlage gelösten Sauerstoffes an den Degradationsvorgängen des Steroids nachweisen. In Prednisolon-Harnstoffsalben fanden HORSCH und LÖSCHBURG (121,122) eine beschleunigte Corticosteroidzersetzung durch die vom Harnstoff bewirkte Basenkatalyse.

Im Hinblick auf die Entwicklung chemisch und physikalisch lagerstabiler Corticoidcremes war es Ziel der vorliegenden Arbeit, diejenigen Parameter, welche Einfluß auf eine Beschleunigung der Steroidzersetzung in O/W-Emulsionen haben, zu ermitteln und durch ihren Ausschluß mit Hilfe geeigneter Stabilisierungsmaßnahmen die Haltbarkeit zu optimieren. Im einzelnen wurden dabei folgende Einflußfaktoren untersucht:

- Lagertemperatur
- pH-Wert der Wasserphase
- Schwermetallverunreinigungen
- Peroxidische Verunreinigungen

- Luftsauerstoff

- Dielektrizitätskonstante der Wasserphase

Der Einfluß von UV-Licht wurde nicht überprüft, da eine photokatalytische Steroidzersetzung bei tubenverpackten Dermatika weitgehend ausgeschlossen werden kann.

Die Untersuchungen wurden mit den Wirkstoffen Hydrocortison und Betamethason-17-valerat durchgeführt. Es galt dabei gleichzeitig abzuklären, inwieweit sich Unterschiede im Zersetzungsverhalten sowie in der Stabilisierungsmöglichkeit zwischen einem Steroidalkohol und einem Steroidester ergeben.

Die Arzneistoffe wurden in einer Konzentration von 1 mg/g in eine nichtionische O/W-Creme eingearbeitet. Die dabei verwendete Grundrezeptur wurde im Rahmen eines Arzneibuchmonographieentwurfes als wirkstofffreie Cremegrundlage im Arbeitskreis von Prof. THOMA entwickelt. Für die vorliegenden Untersuchungen wurde folgende Ausgangsrezeptur zugrunde gelegt:

Corticosteroid	0,1
Polysorbat 60	5,0
Cetylstearylalkohol	10,0
Weißes Vaseline	30,0
Glycerol 85%	10,0
Sorbinsäure	0,1
Kaliumsorbat	0,1
gereinigtes Wasser	ad 100,0

Die Wasserphase jeder Zubereitung wurde auf einen bestimmten pH-Wert gepuffert. Im pH-Bereich zwischen 4,5 und 5,5 wurden Acetatpuffer eingesetzt, für pH 6,0 und 8,0 Phosphatpuffer. Die Ionenstärke der Pufferlösungen betrug bei allen Rezepturen konstant 0,05.

Bei weiterer Abwandlung der Grundrezeptur durch verschiedene Stabilisierungs- oder Destabilisierungszusätze wurden hydrophile Substanzen vom Wassergehalt, lipophile Zusätze vom Gehalt an Vaseline abgezogen.

1. Untersuchung von Einflußfaktoren auf die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Cremes

Zur Ermittlung stabilitätsmindernder Einflüsse und mit dem Ziel einer bestmöglichen Wirkstoffstabilisierung wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen insgesamt 28 verschiedene hydrocortisonhaltige O/W-Rezepturen angefertigt.

Die Abwandlungen der Grundrezeptur bzw. die verschiedenen Stabilisierungs- und Destabilisierungsmaßnahmen sind aus Tabelle 14 zu entnehmen.

Charge	pH-Wert der Wasserphase	weitere Variationen der Ausgangsrezeptur
H 1	4,5	keine
H 2	4,5	Zusatz: Na-EDTA 0,1%
H 3	4,5	Zusatz: Na-Pyrosulfit 0,1%
H 4	4,5	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1%
H 5	4,5	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit/OxyneX je 0,1%
H 6	4,5	Zusatz: Fe(II)sulfat 1 mmol
H 7	4,5	Zusatz: Benzoylperoxid 1 mmol
H 8	4,5	Wasserphase: 67,5% Wasser, 10% Glycerol 85%
H 9	6,0	keine
H 10	6,0	Zusatz: Na-EDTA 0,1%
H 11	6,0	Zusatz: Na-Pyrosulfit 0,1%
H 12	6,0	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1%
H 13	6,0	Zusatz: OxyneX 0,1%
H 14	6,0	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit/OxyneX je 0,1%
H 15	6,0	Zusatz: Fe(II)sulfat 1 mmol
H 16	6,0	Zusatz: Benzoylperoxid 1 mmol
H 17	6,0	Tensid vor Verarbeitung 4 Wochen unter Tageslicht
H 18	6,0	Wasserphase nicht inertbegast
H 19	6,0	Wasserphase 30 min mit Sauerstoff begast
H 20	6,0	Herstellung unter Ausschluß von Luftsauerstoff
H 21	6,0	Wasserphase: 57,5% Wasser, 20% Glycerol 85%
H 22	6,0	Wasserphase: 67,5% Wasser, 10% Glycerol 85%
H 23	6,0	Wasserphase: 77,5% Wasser
H 24	4,75	keine
H 25	5,0	keine
H 26	5,25	keine
H 27	5,5	keine
H 28	8,0	keine

Tab. 14 Abwandlungen der Grundrezeptur bei der Herstellung der Hydrocortisoncremes

Die corticosteroidhaltigen Cremes wurden unmittelbar nach ihrer Herstellung in 50 g Aluminiumtuben mit Innenschutzlackierung abgefüllt.

Die Zersetzung von Hydrocortison in selbsthergestellten O/W-Emulsionen wurde über einen Lagerzeitraum von einem Jahr in Abhängigkeit verschiedener Lagertemperaturen verfolgt. Einige nachträglich angefertigte Rezepturen konnten aus Zeitgründen nur während einer Lagerdauer von neun Monaten untersucht werden.

Die quantitative Bestimmung des Wirkstoffes nach Extraktion aus den Grundlagen erfolgte mittels einer stabilitätsspezifischen HPLC-Methode.

1.1 Einfluß der Lagertemperatur

Die im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen hergestellten hydrocortisonhaltigen Cremes wurden bei Temperaturen von 20°, 25° und 35°C gelagert.

Nach einjähriger Lagerzeit ergab sich bei der Lagertemperatur von 20°C ein durchschnittlicher Wirkstoffverlust von 10,2%, bei 25°C von 16,7% sowie unter Streßbelastung bei 35°C von 44,7%.

Diese Zahlen stellen jeweils Mittelwerte aus 19 in die Untersuchungen einbezogenen Rezepturen dar. Die übrigen neun Zubereitungen wurden nur über einen Lagerzeitraum von neun Monaten untersucht.

Die durchschnittlichen Abbauraten erscheinen hoch, da in diese Zahlen auch die Wirkstoffverluste solcher Rezepturen eingehen, deren Hydrocortisonzersetzung durch Destabilisierungsmaßnahmen katalysiert wurde. Dennoch verdeutlichen die Mittelwerte anschaulich die Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroids bei Erhöhung der Aufbewahrungstemperatur. Dieser Zusammenhang war ausnahmslos bei allen untersuchten Rezepturen zu finden.

In Abbildung 11 ist die Abhängigkeit der Hydrocortisonzersetzung in O/W-Cremes von der Lagertemperatur am Beispiel der Rezeptur H 1 dargestellt.

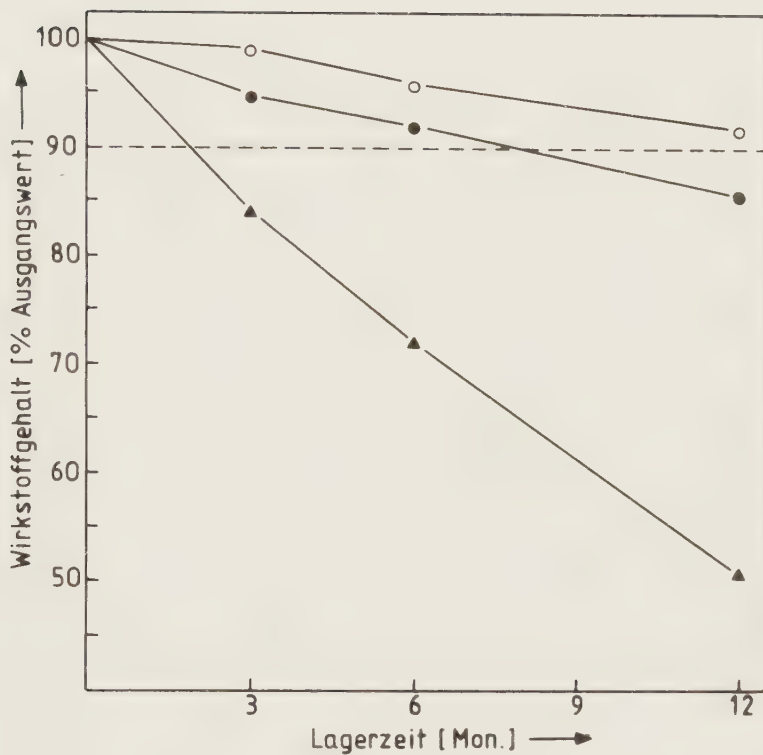


Abb. 11 Abbau von Hydrocortison in Charge H 1
 (Ausgangsrezeptur, pH 4,5) in Abhängigkeit
 von der Lagertemperatur und der Lagerzeit

 -o- 20°C -●- 25°C -▲- 35°C

1.2 Einfluß des pH-Wertes der Wasserphase

Unter anaeroben Bedingungen wurde für Hydrocortison in wäßrigen Lösungen der geringste Stabilitätsverlust im pH-Bereich zwischen 2,5 und 3,5 ermittelt (17).

Um die pH-Abhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroids in O/W-Emulsionen abzuklären, wurden sieben hydrocortisonhaltige Cremes mit unterschiedlich gepufferten Wasserphasen im pH-Bereich zwischen 4,5 und 8,0 angefertigt (Rezepturen H 1, H 9, H 24-28). Auf die Untersuchung von Rezepturen mit pH-Werten <4,5 wurde verzichtet, da dies aufgrund schlechter Hautverträglichkeit für die Entwicklung eines Dermatikums wenig sinnvoll erschien.

Wie aus den Abbildungen 12 und 13 ersichtlich ist, wurde die Zersetzung von Hydrocortison bei einem pH-Wert der Wasserphase von 8,0 stark beschleunigt. Der bei allen Lagertemperaturen hohe Wirkstoffverlust dieser Rezeptur ist auf die basenkatalysierte Zersetzung der C-17-Seitenkette des Steroids zurückzuführen (40,42).

Abbildung 12 zeigt weiterhin, daß im pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,0 keine allzu großen Unterschiede in der Steroidstabilität zu finden waren. Bemerkenswert ist aber die etwas geringere Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroids in Cremes von pH 5,5 und 6,0 als in Zubereitungen von pH 4,5. Deutlicher als bei der Lagerung bei 20°C ließ sich dies in den Untersuchungsergebnissen der unter Streßbedingungen bei 35°C gelagerten Rezepturen erkennen.

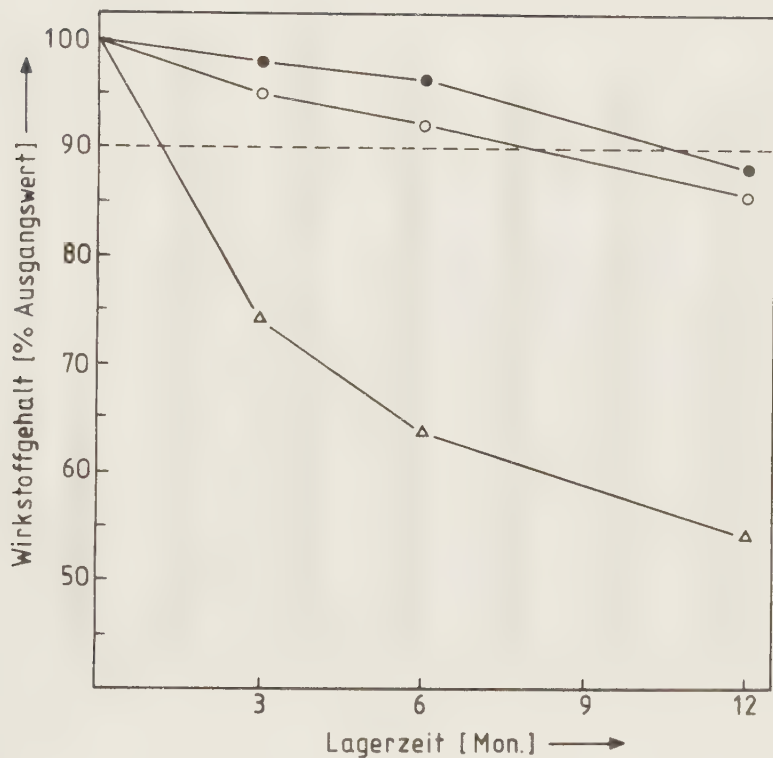


Abb. 12 Einfluß des pH-Wertes der Wasserphase auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagerzeit

Lagertemperatur: 25°C

- Charge H 1 (Ausgangsrezeptur, pH 4,5)
- Charge H 9 (Ausgangsrezeptur, pH 6,0)
- △- Charge H 28 (Ausgangsrezeptur, pH 8,0)

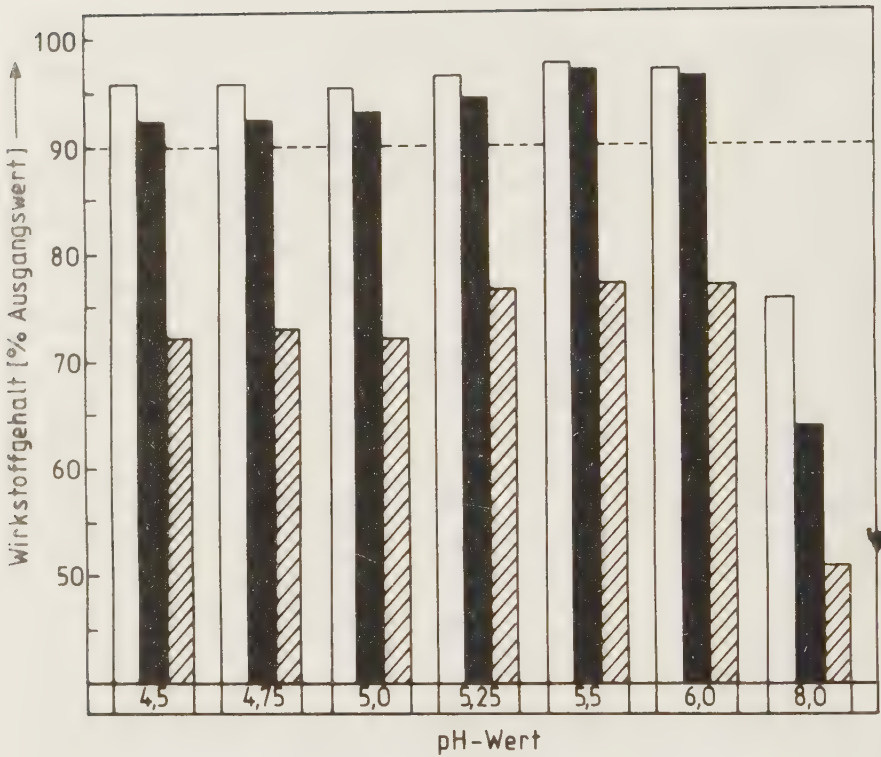


Abb. 13 Einfluß des pH-Wertes der Wasserphase auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 6 Monate

□ 20°C

■ 25°C

▨ 35°C

1.3 Auswirkung von Schwermetallverunreinigungen

Der Einfluß von Schwermetallionen auf die Abbaugeschwindigkeit von Corticosteroiden in wäßrigen Lösungen ist mehrfach beschrieben worden (26,28,31).

CORNEJO und Mitarbeiter (30) fanden eine stark beschleunigte oxidative Zersetzung von Hydrocortison in wäßrigen Attapulgit-Suspensionen und führten dies auf die Katalyse der an die Tonoberflächen natürlicherweise adsorbierten Eisenionen zurück.

Mit dem Ziel, den Einfluß von Schwermetallionen auf die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Cremes aufzuklären, wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen Rezepturen mit Zusatz von Fe^{2+} -Ionen angefertigt (Rezepturen H 6, H 15) und ihre Lagerstabilität verfolgt.

Von der Annahme ausgehend, daß die verwendeten Puffersubstanzen oder andere Grund- und Hilfsstoffe nicht frei von Schwermetallspuren waren, wurde weiterhin der Einfluß eines Komplexbildnerzusatzes (Na-EDTA = Natriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure) untersucht (Rezepturen H 2, H 10) und die Steroidstabilität in diesen Zubereitungen mit der unstabilisierter Rezepturen verglichen.

Um eine mögliche pH-Abhängigkeit der Schwermetallkatalyse abzuklären, wurden die Untersuchungen parallel bei Cremes mit Wasserphasen von pH 4,5 und 6,0 vorgenommen.

Den Abbildungen 14 und 15 ist zu entnehmen, daß sich die Eisenionen katalysierend auf die Hydrocortisonzersetzung in O/W-Cremes auswirkten. Der Einfluß des Schwermetallzusatzes war bei Cremes von pH 4,5 wesentlich ausgeprägter als bei pH 6,0 (Abbildung 14). Der Kurvenverlauf bei graphischer Darstellung der Wirkstoffzersetzung unter Schwermetallkatalyse in Abhängigkeit von der Lagertemperatur macht deutlich, daß bei Zusatz von Eisenionen die Zersetzungsgeschwindigkeit ganz besonders in den ersten Lagermonaten beschleunigt wurde.

Die Zugabe eines Komplexbildners hatte bei beiden untersuchten pH-Werten positive Auswirkungen auf die Steroidstabilität. Wie Abbildung 15 zeigt, ergab sich für die Rezeptur mit Na-EDTA und einer Wasserphase von pH 4,5 nach einjähriger Lagerung bei

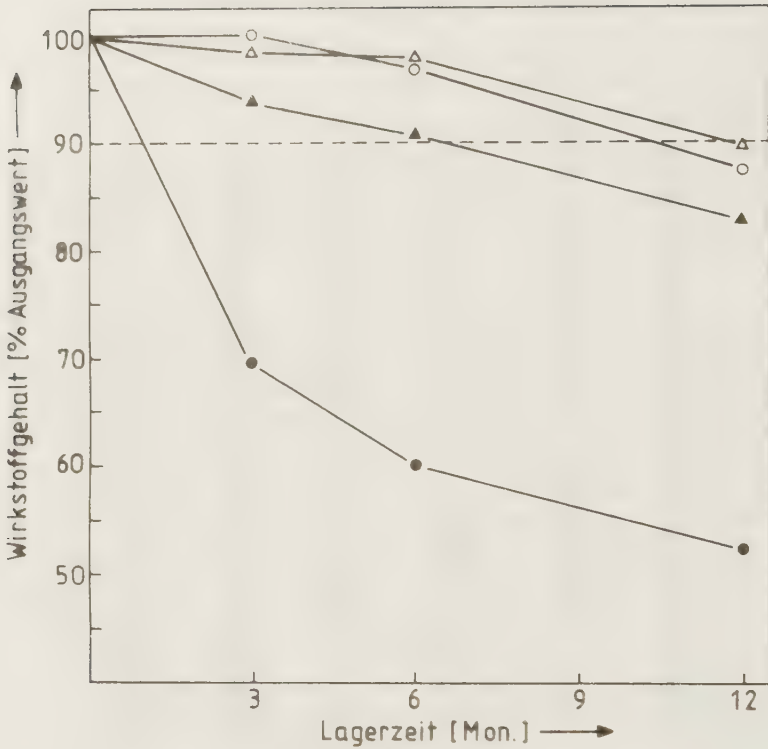


Abb. 14 Einfluß von Schwermetallionen auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase und der Lagerzeit

Lagertemperatur: 25°C

- Charge H 2 (pH 4,5, Zusatz Na-EDTA)
- Charge H 6 (pH 4,5, Zusatz Fe²⁺)
- △- Charge H 10 (pH 6,0, Zusatz Na-EDTA)
- ▲- Charge H 15 (pH 6,0, Zusatz Fe²⁺)

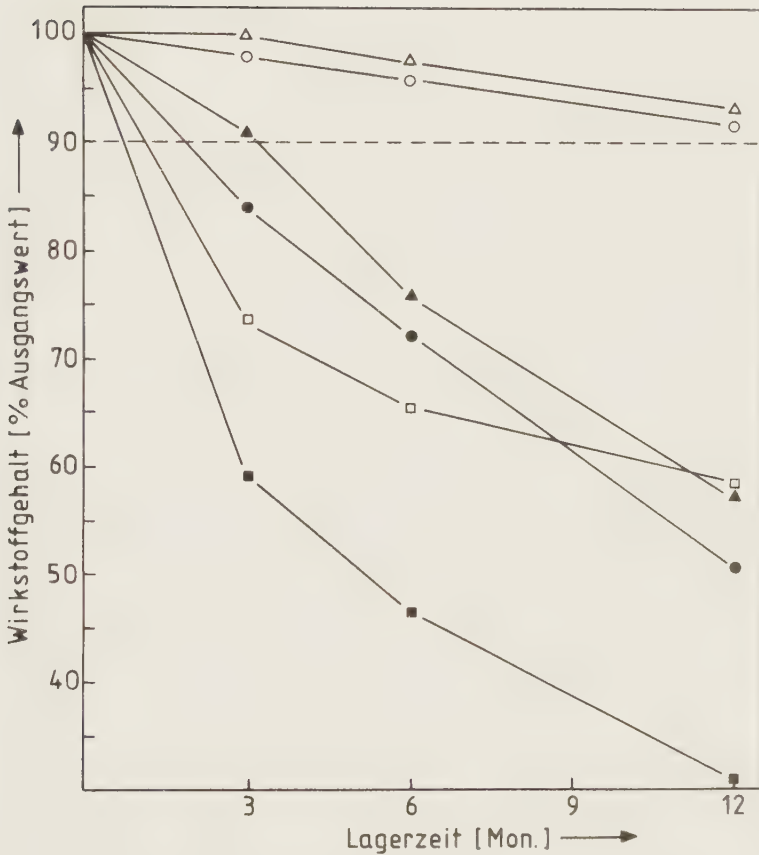


Abb. 15 Einfluß von Schwermetallionen auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur und der Lagerzeit

Wasserphase pH 4,5

- Charge H 1 (Ausgangsrezeptur) 20°C
- Charge H 1 (Ausgangsrezeptur) 35°C
- △- Charge H 2 (Zusatz Na-EDTA) 20°C
- ▲- Charge H 2 (Zusatz Na-EDTA) 35°C
- Charge H 6 (Zusatz Fe^{2+}) 20°C
- Charge H 6 (Zusatz Fe^{2+}) 35°C

20°C ein relativ geringer Wirkstoffmehргеalt im Vergleich zur unstabilisierten Rezeptur (Rezeptur H 1). Bei einer Lagertemperatur von 35°C wurde aber bei den gleichen Rezepturen eine Wirkstoffdifferenz von 6,5% ermittelt.

Diese Untersuchungsergebnisse bestätigen die Annahme, daß auch bei Verwendung sehr reiner Grund- und Hilfsstoffe gewisse Verunreinigungen mit Schwermetallspuren kaum zu vermeiden sind.

1.4 Auswirkung peroxidischer Verunreinigungen

Peroxide können in hohem Maß die Stabilität oxidationsempfindlicher Arzneistoffe gefährden (110).

SATO und Mitarbeiter (45) stellten bei Untersuchungen an Hydrocortisonacetat und Prednisolon in W/O-Emulsionen einen lagerzeitabhängigen Stabilitätsverlust dieser Steroide fest, den sie auf gleichzeitig steigende Peroxidzahlen in den Zubereitungen zurückführen konnten. Eine Veränderung der Peroxidzahlen in parallel dazu untersuchten O/W-Grundlagen während der Lagerung trat bei diesen Untersuchungen nicht auf.

Da jedoch nicht auszuschließen ist, daß Peroxide beispielsweise durch kontaminierte Grund- oder Hilfsstoffe in die Zubereitungen gelangen, wurde im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen der Einfluß von Peroxiden auf die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Cremes überprüft. Zu diesem Zweck wurden hydrocortisonhaltige Rezepturen unter Zugabe von Benzoylperoxid hergestellt (Rezepturen H 7, H 16) und Auswirkungen dieses Zusatzes in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase und der Lagertemperatur über einen Lagerzeitraum von einem Jahr verfolgt.

In einem anderen Versuch wurde das in der Cremegrundlage verwendete Tensid (Polysorbat 60) vor der Herstellung der steroidhaltigen Zubereitung vier Wochen dem Tageslicht ausgesetzt (Rezeptur H 17). Eine Überprüfung dieses Einflusses auf die Steroidstabilität erschien deshalb sinnvoll, weil der hydrophile Molekülanteil des Emulgators Polysorbat 60 aus Poly-

ethylen glykoleinheiten besteht, welche durch Einfluß von UV-Licht der Autoxidation unterliegen können (123).

Zur Hemmung bzw. Verzögerung oxidativer, stabilitätsmindernder Einflüsse wurden in weiteren Rezepturen verschiedene Stabilisierungsmaßnahmen ergriffen und die Effektivität der zugesetzten Stabilisatoren verglichen. In diesem Zusammenhang wurde die Wirkung eines Redoxstabilisators (Natriumpyrosulfit), eines Antioxidans in Verbindung mit einem Synergisten (Oxyner[®]) sowie von Kombinationen dieser Substanzen mit einem Komplexbildner (Na-EDTA) bestimmt. Die Untersuchungen erfolgten ebenfalls in Abhängigkeit verschiedener pH-Werte der Wasserphasen (Rezepturen H 3 - H 5, H 11 - H 14).

Die Abbildungen 16 und 17 zeigen, daß die Stabilität von Hydrocortison in den untersuchten O/W-Cremes durch Peroxideinfluß merklich vermindert wurde. Die Wirkstoffzersetzung wurde jedoch weniger beschleunigt als unter Schwermetallkatalyse.

Wie aus Abbildung 16 ersichtlich wird, war der Einfluß des Peroxidzusatzes vom pH-Wert der Wasserphase abhängig. In den untersuchten Zubereitungen von pH 6,0 verlief die Wirkstoffzersetzung in den ersten Lagermonaten etwas schneller als bei pH 4,5. Im Verlauf der weiteren Lagerung kehrten sich diese Verhältnisse jedoch um, so daß nach einjähriger Lagerzeit bei allen untersuchten Lagertemperaturen die Rezepturen von pH 4,5 größere Stabilitätsverluste zeigten.

Der Abbildung 17 ist zu entnehmen, daß sich der Einfluß von UV-Licht auf das Tensid letztlich stabilitätsmindernd auf den Wirkstoff in der Arzneiform auswirkte. Zwar war der Abbau von Hydrocortison in der betreffenden Zubereitung nicht so groß wie bei Zusatz von Benzoylperoxid, doch wurde - wie der Vergleich zur Rezeptur H 9 zeigt - eine Beschleunigung der Wirkstoffzersetzung festgestellt.

Wie Abbildung 17 weiterhin zeigt, wirkte sich der Zusatz des Redoxstabilisators positiv auf die Steroidstabilität aus. Auf den weiteren Einfluß der verschiedenen Stabilisierungszusätze soll im folgenden eingegangen werden.

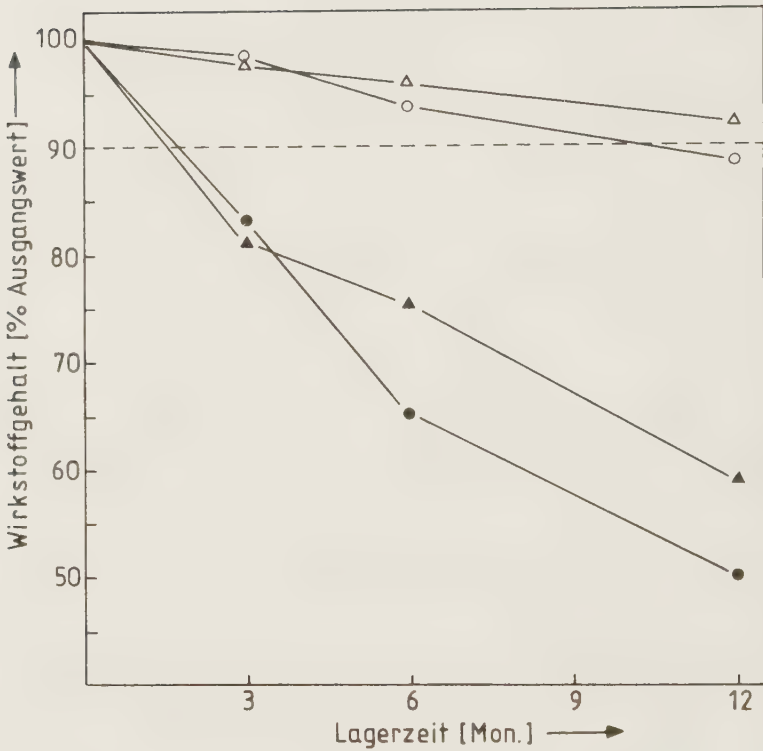


Abb. 16 Einfluß von Peroxiden auf die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase, der Lagertemperatur und der Lagerzeit

Zusatz 1 mmol Benzoylperoxid

- Charge H 7 (pH 4,5) 20°C
- Charge H 7 (pH 4,5) 35°C
- △- Charge H 16 (pH 6,0) 20°C
- ▲- Charge H 16 (pH 6,0) 35°C

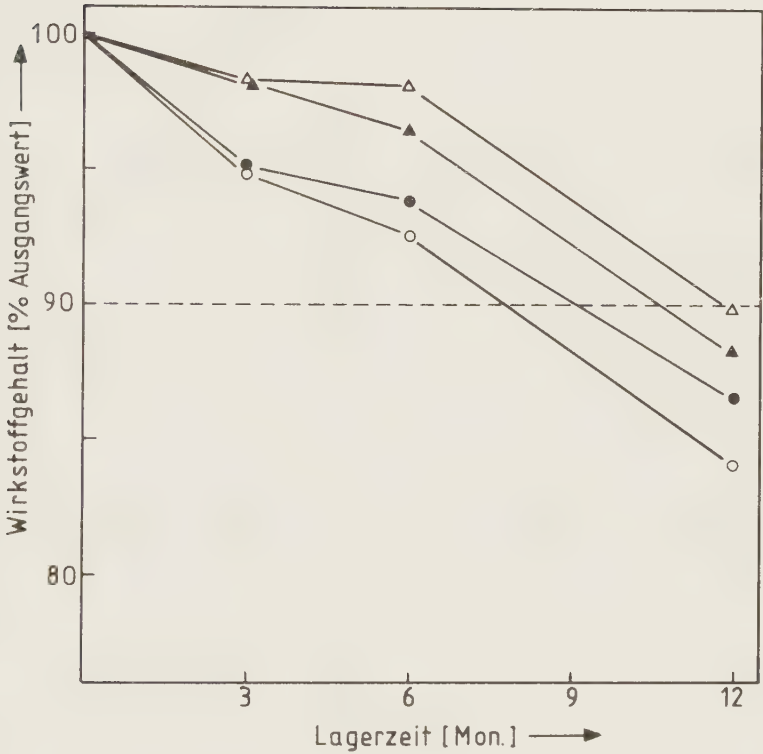


Abb. 17 Einfluß von Peroxiden auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagerzeit

Lagertemperatur: 25°C

Wasserphase pH 6,0

- o- Charge H 16 (Zusatz Benzoylperoxid)
- Charge H 17 (Tensid UV-belastet)
- Δ- Charge H 11 (Zusatz Na-Pyrosulfit)
- ▲- Charge H 9 (Ausgangsrezeptur)

1.5 Einfluß von Luftsauerstoff

Eine wesentliche Voraussetzung für den Ablauf von Oxidationsprozessen ist die Anwesenheit von Sauerstoff. Durch Sauerstoffausschluß läßt sich daher in der Regel die Stabilität oxidationsgefährdeter Arzneistoffe verbessern (110).

ROTHLEY (18) wies bei Untersuchungen an Prednisolon in einer wasserfreien Kohlenwasserstoffgrundlage die direkte Beteiligung von Sauerstoff an den Degradationsvorgängen des Steroids nach. Er konnte zeigen, daß die Menge des in der Grundlage gelösten Sauerstoffes mit zunehmender Steroidzersetzung abnahm, also verbraucht wurde. GUTTMAN und MEISTER (39) stellten bei Stabilitätsuntersuchungen an Prednisolon in wäßriger Lösung fest, daß die sauren Abbauprodukte des Steroids unter aeroben Bedingungen schneller gebildet werden als unter Ausschluß von Luftsauerstoff.

Bei den im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen hergestellten Hydrocortisoncremes muß mit Ausnahme von Rezeptur H 20 generell mit der Anwesenheit von Luftsauerstoff gerechnet werden.

Zwar wurde das verwendete Wasser jeweils unmittelbar vor Herstellung einer Rezeptur durch Auskochen entgast und während der Abkühlphase inertbegast; es ist jedoch anzunehmen, daß durch den manuellen Rührvorgang in der Fantaschale wieder Luftsauerstoff in die Zubereitungen gelangte.

Um dennoch den Einfluß von Luftsauerstoff auf die Zersetzungsgeschwindigkeit von Hydrocortison in O/W-Cremes abzuklären, wurden einzelne Rezepturen wie folgt variiert:

- Kein Auskochen und keine Inertbegasung der Wasserphase (Rezeptur H 18)
- Begasung der Wasserphase mit Sauerstoff während 30 min (Rezeptur H 19)
- Herstellung einer Zubereitung im geschlossenen System unter Ausschluß von Luftsauerstoff (Rezeptur H 20)

Der pH-Wert der Wasserphasen betrug für alle Rezepturen dieser Untersuchung 6,0. Auf einen Vergleich mit Zubereitungen von pH 4,5 wurde verzichtet, da das Hauptabbauprodukt des Hydrocortisons im stärker sauren Bereich, das C-17-Deoxy-21-dehydrohydrocortison, ohne Beteiligung von Sauerstoff durch protonenkatalysierte Dehydratation entstehen kann (18,27,33).

Wie aus Abbildung 18 hervorgeht, beeinflusst die Menge an eingearbeitetem Luftsauerstoff die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Cremes. Die stärkste Steroidzersetzung war bei allen Lagertemperaturen in Rezeptur H 19 zu verzeichnen, deren Wasserphase mit Sauerstoff begast worden war. Wie der Vergleich zu der auf übliche Weise hergestellten Rezeptur H 9 zeigt, wirkte sich schon der Verzicht auf Inertbegasung der Wasserphase (Rezeptur H 18) negativ auf die Steroidstabilität aus.

Dagegen ergab der vollkommene Ausschluß von Luftsauerstoff durch Herstellung im geschlossenen System (Rezeptur H 20) eine fast ebenso wirksame Stabilisierung des Wirkstoffes wie der Zusatz einer Kombination aus Komplexbildner, Redoxstabilisator und Antioxidans bei Herstellung in der Fantaschale (Rezeptur H 14).

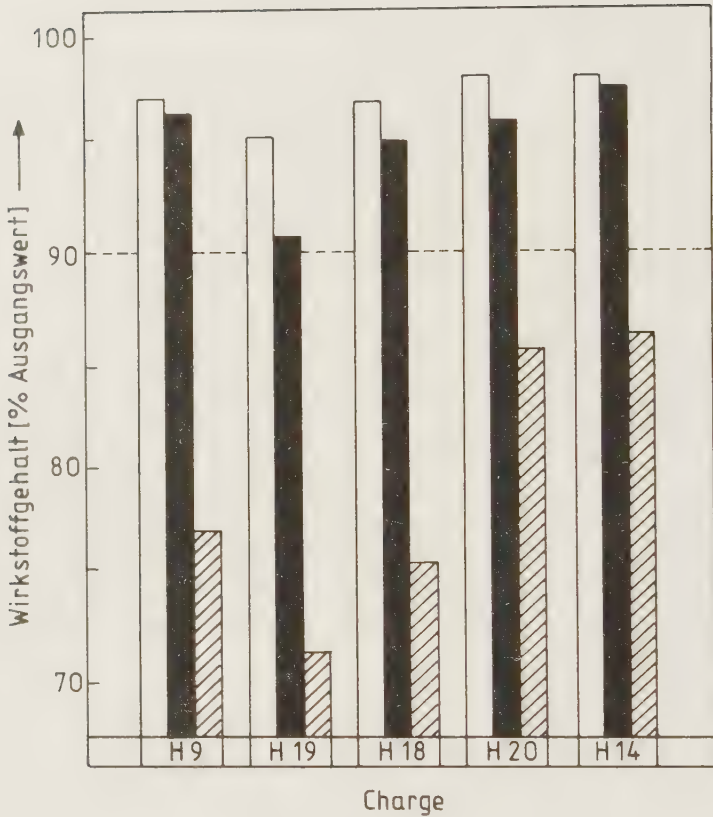


Abb. 18 Einfluß von Luftsauerstoff auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 6 Monate

Wasserphase pH 6,0

□ 20°C

■ 25°C

▨ 35°C

1.6 Einfluß der Dielektrizitätskonstante

Die Polarität eines Lösungsmittels, ausgedrückt in seiner Dielektrizitätskonstante, kann Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit und die Gleichgewichtslage chemischer Reaktionen nehmen. Im allgemeinen gilt, daß in einem polaren Medium diejenigen Reaktionen schneller verlaufen, die zu polareren Produkten führen als es die Ausgangsstoffe sind. Die Entstehung weniger polarer Reaktionsprodukte wird dagegen in Lösungsmitteln geringerer Polarität beschleunigt (124).

HANSEN und BUNDGAARD (35) konnten bei Untersuchungen an wäßrig-alkoholischen Hydrocortisonlösungen unter anaeroben Bedingungen feststellen, daß die oxidativen Zersetzungsreaktionen des Steroids bei Erniedrigung der Dielektrizitätskonstante zurückgedrängt werden. Die nichtoxidativen Abbauege blieben bei diesen Untersuchungen unbeeinflußt.

Um abzuklären, inwieweit die Dielektrizitätskonstante der Wasserphase Einfluß auf die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Emulsionen besitzt, wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wirkstoffhaltige Rezepturen mit unterschiedlichen Glycerin/Wasser-Mischungsverhältnissen angefertigt. Die zugehörigen Dielektrizitätskonstanten der Wasserphasen bei 20°C sind aus Tabelle 15 ersichtlich. Ihre Berechnung erfolgte unter Zugrundelegung der von AKERLÖF (125) ermittelten DK-Werte mehrerer Glycerin/Wasser-Mischungen durch Interpolation. Bei der Regressionsberechnung ergab sich dabei ein Korrelationskoeffizient von 0,99994.

Charge	Wasserphase [Gew. %]	Wassergehalt [Gew. %]	Glycerin- gehalt [Gew. %]	Glyceringehalt der Wasserphase [Gew. %]	Dielektrizitäts- konstante DK 20°C
H 21	77,5	60,5	17,0	28,1	72,35
H 22/H 8	77,5	69,0	8,5	12,3	76,87
H 23	77,5	77,5	0	0	80,37

Tab. 15 Dielektrizitätskonstanten der Wasserphasen untersuchter Hydrocortisoncremes

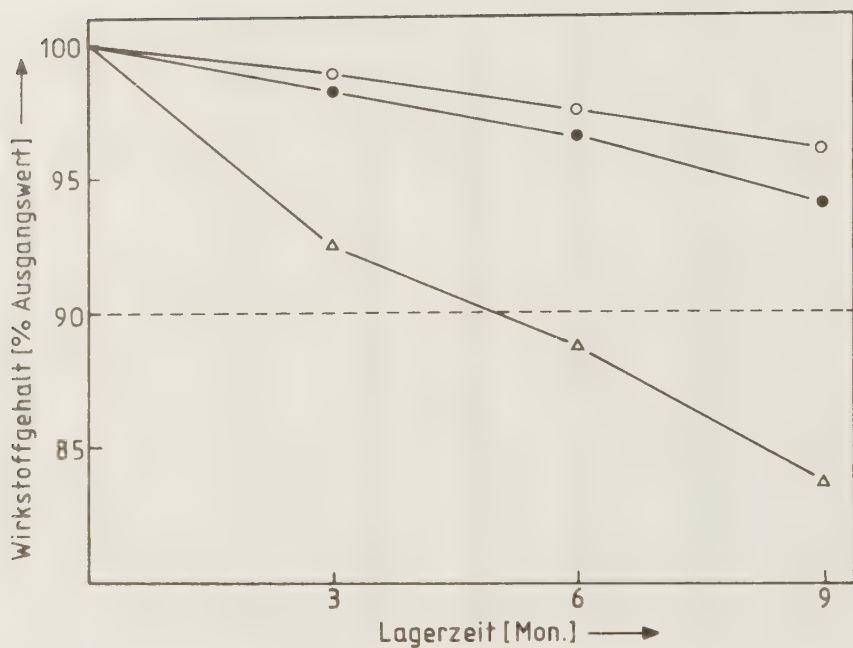


Abb. 19 Einfluß der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagerzeit

Lagertemperatur: 20°C

Wasserphase pH 6,0

-○- Charge H 21 (DK = 72,35)

-●- Charge H 22 (DK = 76,87)

-△- Charge H 23 (DK = 80,37)

Wie aus Abbildung 19 hervorgeht, wird die Zersetzungsgeschwindigkeit des Hydrocortisons in O/W-Zubereitungen bei gleichbleibendem prozentualen Anteil der Wasserphase an der Gesamt-rezeptur vom Mischungsverhältnis zwischen Wasser und Glycerin beeinflusst. Bei Erhöhung der Dielektrizitätskonstante nahm in den untersuchten Rezepturen die Abbaurate des Wirkstoffes zu. Es ließ sich jedoch kein linearer Zusammenhang zwischen der Zersetzungsgeschwindigkeit des Hydrocortisons und der Polari-tät der Wasserphase feststellen. Vielmehr war der Stabilitäts-verlust des Steroids in der glycerinfreien Zubereitung beson-ders erhöht. Auf eine Erklärungsmöglichkeit dieses Phänomens im Zusammenhang mit einer veränderten Sauerstoffsättigung der Wasserphase in Abwesenheit von Glycerin soll in der nachfol-genden Diskussion näher eingegangen werden.

1.7 Diskussion der Ergebnisse

Die Untersuchungen an 28 hergestellten O/W-Cremes mit dem Wirkstoff Hydrocortison ergaben eine deutliche Abhängigkeit der Steroidzerstörung von Lagerzeit und Lagertemperatur. Das Ausmaß weiterer Einflußfaktoren auf die Stabilität des Corti-costeroids ist aus Tabelle 16 zusammenfassend zu entnehmen.

Destabilisierende Faktoren	Ausmaß des Einflusses		Stabilisierende Faktoren*
alkalischer pH-Wert	- - -	+	Zusatz Antioxidans
Erhöhung DK-Wert (glycerinfrei)	- -	+ +	Zusatz Redoxstabilisator
Schwermetallverunreinigungen	- -	+ +	Zusatz Komplexbildner
(Luft-) Sauerstoff	- -	+ + +	Ausschluß von Luftsauer- stoff
peroxidische Verunrei- nigungen	-	+ + +	Zusatz Redoxstabilisator, Komplexbildner, Antioxidans

Tab. 16 Einflußfaktoren auf die Stabilität von Hydrocortison
in O/W-Emulsionen

* bei pH 6,0

- geringe Stabilitätsminderung
- - Stabilitätsminderung
- - - sehr starke Stabilitätsminderung
- + geringe Stabilisierung
- + + Stabilisierung
- + + + sehr wirkungsvolle Stabilisierung

Entstehung der Zersetzungsprodukte in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase

Der pH-Wert der Wasserphase übte Einfluß auf die Stabilität des Corticosteroids aus. Wie die Ergebnisse zeigen, war die pH-Abhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit im pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,0 aber verhältnismäßig gering. Im Gegensatz zu Untersuchungen von DEKKER und BEIJNEN (17), die in wäßriger Lösung unter anaeroben Bedingungen eine etwas größere Stabilität für Hydrocortison bei pH 4,5 ermittelten, zeigte der Wirkstoff in den hier untersuchten Rezepturen eine geringere Zersetzung im pH-Bereich zwischen 5,5 und 6,0. Die Ergebnisse sind jedoch nicht ohne weiteres vergleichbar, da die vorliegenden Untersuchungen an Zweiphasensystemen und nicht unter Ausschluß von Luftsauerstoff vorgenommen wurden.

Eine besonders starke Zersetzung erfuhr Hydrocortison in einer O/W-Emulsion mit alkalischem pH-Wert der Wasserphase.

Wie Abbildung 20 zeigt, wird das Steroid in wäßriger Lösung unter aeroben Bedingungen im pH-Bereich um 6 bevorzugt zu neutral reagierenden Glyoxalen abgebaut (26,27). Dagegen bilden sich unter Basenkatalyse in Folgereaktionen auch saure Reaktionsprodukte des Hydrocortisons (40,42).

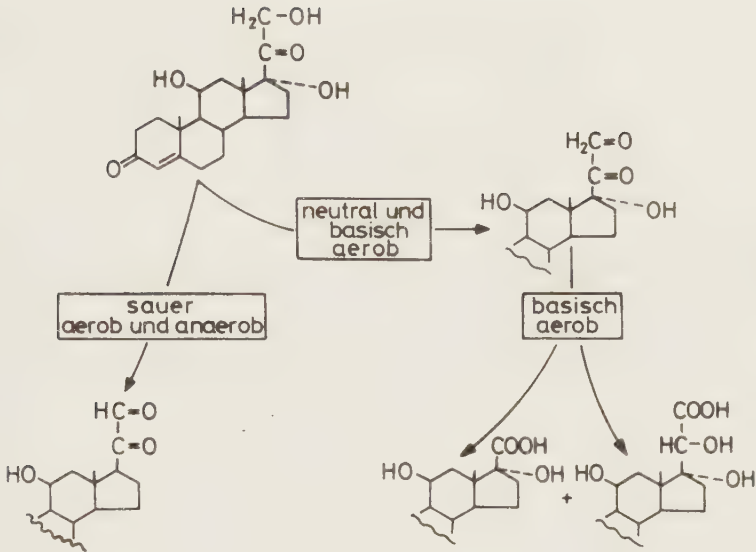


Abb. 20 pH-Abhängigkeit der Entstehung von Zersetzungsprodukten des Hydrocortisons in wäßriger Lösung unter aeroben Bedingungen

Die vorliegenden Stabilitätsuntersuchungen an Hydrocortison in wäßrigen Zweiphasensystemen zeigten, daß sich der Reaktionsverlauf in wäßrigen Lösungen unter aeroben Bedingungen auf die Entstehung der Abbauprodukte in O/W-Grundlagen übertragen läßt. Wie aus Abbildung 21 hervorgeht, führte die Zersetzung von Hydrocortison in den untersuchten Zubereitungen in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase ebenfalls zu neutralen oder sauren Reaktionsprodukten. Wie das zugehörige HPLC-Chromatogramm der Rezeptur H 9, deren Wasserphase auf pH 6,0 gepuffert worden war, zeigt, entstanden unter diesen Bedingungen ausschließlich neutral reagierende Abbauprodukte (Abb. 21 A). Diese sind weniger polar als der unzersetzte Wirkstoff und haben daher im Chromatogramm höhere Retentionszeiten als Hydrocortison. In der Zubereitung mit einem pH-Wert von 8,0 (Rezeptur H 28) bildeten sich dagegen neben einem geringeren Anteil neutraler Zersetzungsprodukte vor allem saure Reaktionsprodukte (Abb. 21 B). Diese sind polarer als Hydrocortison und besitzen daher im Chromatogramm unter reversed-phase-Bedingungen kürzere Retentionszeiten.

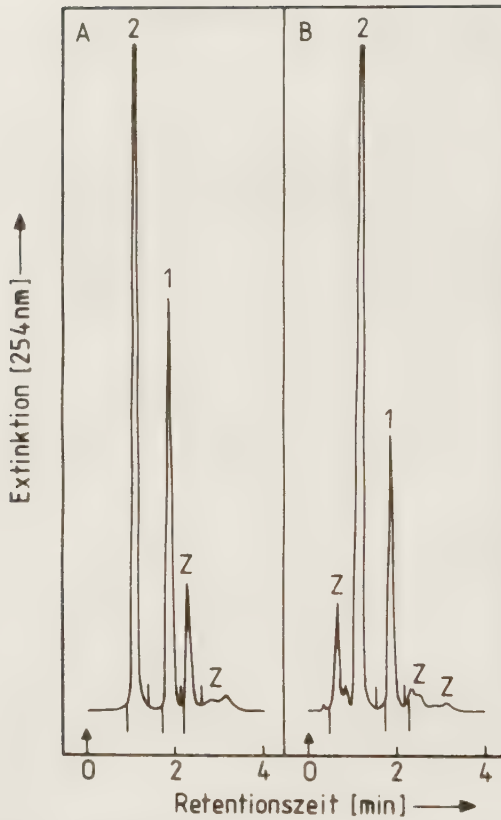


Abb. 21 HPLC-Bestimmung von Hydrocortison und seinen Abbau-
produkten aus O/W-Cremes in Abhängigkeit vom pH-
Wert der Wasserphase (Stationäre Phase: Radial-Pak
C 18; Mobile Phase: Methanol 69,5 T, Wasser 30 T,
Diisopropylether 0,5 T; Durchfluß: 3 ml/min)
Lagertemperatur: 25°C, Lagerzeit: 12 Monate

A	Charge H 9 (pH 6,0)	1	Hydrocortison
B	Charge H 28 (pH 8,0)	2	Sorbinsäure
		Z	Zersetzungsprodukte des Hydrocortisons

Entstehung von Zersetzungsprodukten unter Einfluß oxidationsfördernder Zusätze

Alle untersuchten Faktoren, welche oxidative Reaktionsprozesse beschleunigen können, wirkten sich katalysierend auf die Zersetzung von Hydrocortison in O/W-Cremes aus.

Der Schwermetalleinfluß war bei pH 4,5 stärker ausgeprägt als bei pH 6,0. Folgerichtig hatte die Zugabe des Komplexbildners Na-EDTA bei pH 4,5 einen etwas größeren Stabilisierungseffekt. Dieses Ergebnis in Zweiphasensystemen steht im Gegensatz zu Untersuchungen in wäßriger Lösung von BUNDGAARD und HANSEN (26,27). Die Autoren konnten unter ihren Versuchsbedingungen nur einen stabilisierenden Einfluß des Komplexbildners im neutralen bis basischen pH-Bereich finden.

Es ist nicht auszuschließen, daß die unterschiedlichen Puffersubstanzen der Wasserphasen Einfluß auf die vorliegenden Ergebnisse in O/W-Cremes nahmen.

Wie Abbildung 22 zeigt, entstanden in den untersuchten hydrocortisonhaltigen Rezepturen unter allen Bedingungen, welche den oxidativen Steroidabbau fördern, im schwach sauren pH-Bereich qualitativ die gleichen Zersetzungsprodukte. Sowohl unter Schwermetallkatalyse (Abb. 22 A) als auch bei Begasung der Wasserphase mit Sauerstoff (Abb. 22 B) sowie bei Zusatz von Peroxiden (Abb. 22 C) bildeten sich überwiegend neutrale Abbauprodukte des Hydrocortisons. Die zugehörigen Peaks besitzen im HPLC-Chromatogramm unter reversed-phase-Bedingungen aufgrund ihrer geringeren Polarität wiederum höhere Retentionszeiten als der unzersetzte Wirkstoff. Da die Abbaureaktionen in allen Zubereitungen in Anwesenheit von Luftsauerstoff abliefen, kann davon ausgegangen werden, daß es sich bei diesen Zersetzungsprodukten wiederum um die beiden Glyoxale handelt (vgl. Abb. 20). Der im Chromatogramm direkt auf Hydrocortison folgende Abbauprodukt ist demzufolge C-21-Dehydrohydrocortison zuzuordnen. Diese Substanz ist etwas polarer als C-17-Deoxy-21-dehydrohydrocortison und bildet sich bevorzugt in etwas höheren pH-Bereichen. Ihr quantitativer Anteil an den Gesamtbauprodukten ist daher bei pH 6,0 auch verhältnismäßig höher (Abb. 22 B u. C) als bei pH 4,5 (Abb. 22 A). Im stärker sauren Bereich bildet sich bevorzugt C-17-

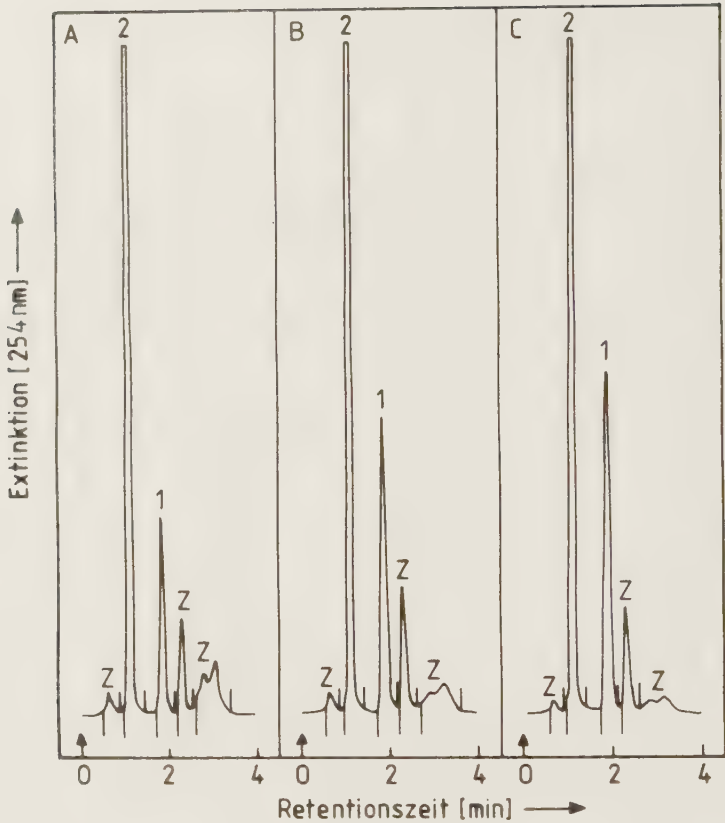


Abb. 22 HPLC-Bestimmung von Hydrocortison und seinen Abbau-
produkten aus O/W-Cremes in Abhängigkeit verschiede-
ner destabilisierender Zusätze (Stationäre Phase:
Radial-Pak C 18; Mobile Phase: Methanol 69,5 T,
Wasser 30 T, Diisopropylether 0,5 T; Durchfluß:
3 ml/min)

Lagertemperatur: 20°C, Lagerzeit: 12 Monate

A Charge H 6 (pH 4,5, Zusatz Fe^{2+})

B Charge H 19 (pH 6,0, O_2 -begast)

C Charge H 16 (pH 6,0, Zusatz Peroxid)

1 Hydrocortison

2 Sorbinsäure

Z Zeretzungsprodukte des Hydrocortisons

Deoxy-21-dehydrohydrocortison. Diese Substanz entsteht unter aeroben und unter anaeroben Bedingungen durch protonenkatalysierte Dehydratation (18). Es ist sehr wahrscheinlich, daß der im HPLC-Chromatogramm auftretende Doppelpeak von diesem Reaktionsprodukt gebildet wird, da der quantitative Anteil der Substanz an den Gesamtabbauprodukten bei allen untersuchten Zubereitungen von pH 4,5 höher war als bei pH 6,0. Die Annahme wird auch durch eine Arbeit von DEKKER (41) gestützt, der bei Untersuchungen an dem mit Hydrocortison bis auf eine zweite Doppelbindung im Ring A identischen Prednisolon in wäßrigen Lösungen bei pH-Werten ≤ 6 die Entstehung des C-17-Deoxy-21-dehydrosteroids in α - und β -Modifikation nachwies. Die beiden entstehenden Konformationen des Glyoxals erklären das Auftreten eines Doppelpeaks.

Der Anteil an sauren Zersetzungsprodukten des Hydrocortisons war trotz oxidationsfördernder Destabilisierungsmaßnahmen in den untersuchten O/W-Cremes von pH 4,5 und 6,0 gering. Dies steht im Einklang mit den Untersuchungsergebnissen verschiedener Autoren (40,42) in wäßriger Lösung, die eine Bildung saurer Abbauprodukte ausschließlich unter Basenkatalyse nachweisen konnten.

Entstehung von Zersetzungsprodukten in Abhängigkeit von der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase

Bei den Untersuchungen zur Abhängigkeit der Hydrocortison-zersetzung von der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase zeigten alle zugehörigen Chromatogramme ebenfalls die Entstehung der beiden Glyoxale. Mit zunehmendem DK-Wert und steigender Steroidzersetzung erhöhte sich jedoch nur der Anteil des Abbauproduktes C-21-Dehydrohydrocortison. Da diese Substanz ausschließlich unter aeroben Bedingungen gebildet wird (49), ist anzunehmen, daß die erhöhte Dielektrizitätskonstante nur mittelbar für den beschleunigten Abbau verantwortlich ist. Vielmehr scheint eine von HANSEN und BUNDGAARD (35) gegebene Erklärung in wäßrig-alkoholischen Lösungen des Steroids auch für die hier untersuchten Zweiphasensysteme zutreffen. Diese Autoren machen bei ihren Untersuchungen die

erhöhte Sauerstofflöslichkeit in Medien höherer Polarität als Ursache für eine beschleunigte Steroidzersetzung verantwortlich.

Bei prozentualer Verminderung des Glycerinanteils der Wasserphase von O/W-Emulsionen wird die Sättigungslöslichkeit von Sauerstoff erhöht und damit der Ablauf von Oxidationsreaktionen des Steroids gefördert.

Die Richtigkeit dieser Annahme wird auch durch eigene Untersuchungen an Betamethason gestützt. Dieses Corticosteroid, das sich von Hydrocortison in der vom oxidativen Abbau betroffenen C-17-Seitenkette nicht unterscheidet, zeigte bei Verarbeitung in O/W-Cremes unter Ausschluß von Luftsauerstoff im geschlossenen System einer Kleinprozeßanlage keine Abhängigkeit der Abbaugeschwindigkeit von der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase.

Verhinderung der Entstehung von Zersetzungsprodukten durch Einsatz geeigneter Stabilisatoren

Die unterschiedlichen Stabilisierungszusätze zu hydrocortisonhaltigen O/W-Cremes bewirkten bei beiden untersuchten pH-Werten eine Verringerung der Abbaugeschwindigkeit; insgesamt ergaben sich aber wiederum die stabileren Zubereitungen bei einem pH-Wert der Wasserphase von 6,0.

Wie aus Abbildung 23 hervorgeht, zeigte bei Stabilisierungsversuchen mit Einzelsubstanzen der Komplexbildner den größten Einfluß (Rezeptur H 10). Auch der Zusatz des Redoxstabilisators (Rezeptur H 11) bewirkte eine Verminderung der Abbaurate. Ähnlich lagen die Ergebnisse bei Zugabe des Antioxidans als Einzelsubstanz (Rezeptur H 13). Da diese Rezeptur nur über einen Lagerzeitraum von neun Monaten untersucht wurde, ist sie in Abbildung 23 nicht enthalten.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß eine Kombination aus Komplexbildner und Redoxstabilisator (Rezeptur H 12) keine weitere Stabilitätsverbesserung brachte. Beide Substanzen scheinen Einfluß auf die gleichen Abbaureaktionen zu nehmen, wobei der Komplexbildner die effektivere Wirkung besitzt.

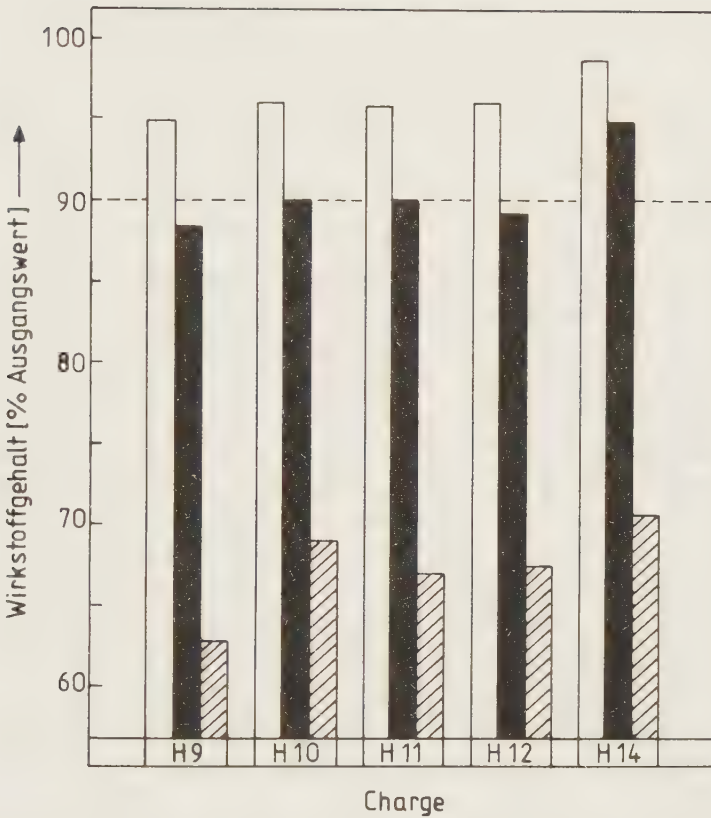


Abb. 23 Einfluß verschiedener Stabilisatorzusätze auf den Abbau von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 12 Monate

Wasserphase pH 6,0

Charge H 9: Ausgangsrezeptur

Charge H 10: Zusatz Na-EDTA

Charge H 11: Zusatz Na-Pyrosulfit

Charge H 12: Zusatz Na-EDTA, Na-Pyrosulfit

Charge H 14: Zusatz Na-EDTA, Na-Pyrosulfit, Oxyhex®

□ 20°C

■ 25°C

▨ 35°C

Bei zusätzlicher Kombination mit einem Antioxidans (Rezeptur H 14) ließ sich dagegen nochmals eine Verbesserung der Hydrocortisonstabilität erzielen. Bei pH 6,0 ergab sich auf diese Weise eine befriedigend stabilisierte Rezeptur, die nach einjähriger Lagerung bei 20°C einen Wirkstoffverlust von wenig mehr als einem Prozent zu verzeichnen hatte. Dieser Wert liegt innerhalb der Fehlergrenze der Analysenmethode.

Interessante Aufschlüsse sind den zugehörigen HPLC-Chromatogrammen zu entnehmen. Wie Abbildung 24 zeigt, ließ sich durch Kombination der drei Stabilisatoren die Bildung des polareren Glyoxals sowie der sauren Abbauprodukte bei allen Lagertemperaturen vollständig verhindern (Abb. 24 A u. B). Ganz ähnliche Verhältnisse zeigt das Chromatogramm der im geschlossenen System unter Ausschluß von Luftsauerstoff hergestellten Rezeptur H 20 (Abb. 24 C). Dieses Ergebnis bestätigt noch einmal, daß es sich bei dem polareren der beiden in unstabilisierten O/W-Cremes entstehenden neutralen Abbauprodukte des Hydrocortisons um C-21-Dehydrohydrocortison handelt. Da diese Substanz nur durch Oxidation in Gegenwart von Luftsauerstoff gebildet werden kann (49), entsteht sie bei Ausschluß von Luftsauerstoff sowie bei Zusatz oxidationshemmender Substanzen nicht.

Wie Abbildung 24 weiterhin zeigt, ließ sich die Bildung des C-17-Deoxy-21-dehydrohydrocortisons durch die eingesetzten Stabilisierungsmaßnahmen nicht verhindern. Bei einjähriger Lagerung bei 20°C war die gebildete Menge in der Zubereitung von pH 6,0 jedoch gering. Wie schon erwähnt, kann dieses Glyoxal ohne Beteiligung von Sauerstoff durch protonenkatalysierte Enolisierung und anschließende Dehydratation entstehen (Abbildung 25). Da der Enolisierungsschritt protonenkatalysiert ist, also bei tieferen pH-Werten schneller erfolgt, erklärt sich das vorliegende Untersuchungsergebnis der besseren Stabilität des Hydrocortisons in O/W-Cremes von pH 6,0.

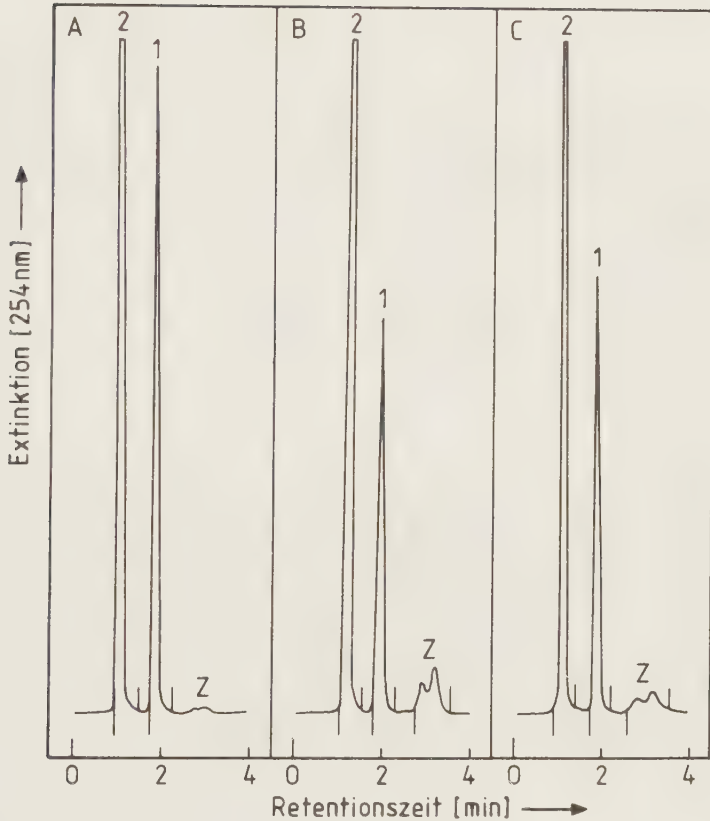


Abb. 24 HPLC-Bestimmung von Hydrocortison und seinen Abbau-
produkten aus O/W-Cremes in Abhängigkeit verschiede-
ner Stabilisierungsmaßnahmen und Lagertemperaturen
(Stationäre Phase: Radial-Pak C 18; Mobile Phase:
Methanol 69,5 T, Wasser 30 T, Diisopropylether
0,5 T; Durchfluß: 3 ml/min)

Wasserphase: pH 6,0

A Charge H 14, Lagerzeit 12 Mon., 20°C

B Charge H 14, Lagerzeit 12 Mon., 35°C

C Charge H 20, Lagerzeit 9 Mon., 35°C

1 Hydrocortison

2 Sorbinsäure

Z Zersetzungsprodukte des Hydrocortisons

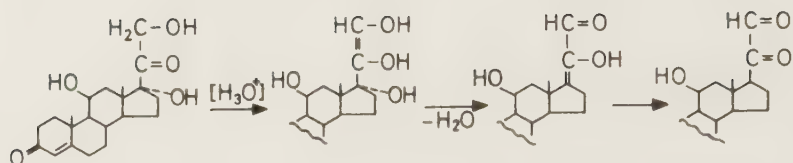


Abb. 25 Protonenkatalysierter Abbau des Hydrocortisons
ohne Beteiligung von Sauerstoff

Schlußfolgerung

Zusammenfassend ist festzustellen, daß es durch Stabilisierungsmaßnahmen gelang, die oxidativen Abbaureaktionen des Hydrocortisons in O/W-Cremes zu unterdrücken. Dabei wirkte sich eine Herstellung unter Ausschluß von Luftsauerstoff fast ebenso stabilisierend aus wie eine in verschiedenen Einzelversuchen entwickelte, effektive Kombination mehrerer Stabilisatoren. Die nichtoxidativen Zersetzungsreaktionen ließen sich durch Einstellung der Wasserphase auf pH 6,0 vermindern.

2. Untersuchung von Einflußfaktoren auf die Stabilität von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes

Zur Ermittlung von Einflußfaktoren auf die Lagerstabilität von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen analog zu den hydrocortisonhaltigen Zubereitungen 29 Chargen mit dem C-17-Steroidester angefertigt und untersucht. Die Abwandlungen der Grundrezeptur bei der Verarbeitung von Betamethason-17-valerat sind der Tabelle 17 zu entnehmen.

Charge	pH-Wert der Wasserphase	weitere Variationen der Ausgangsrezeptur
B 1	4,5	keine
B 2	4,5	Zusatz: Na-EDTA 0,1%
B 3	4,5	Zusatz: Na-Pyrosulfit 0,1%
B 4	4,5	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1%
B 5	4,5	Zusatz: Oxyplex 0,1%
B 6	4,5	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit/Oxyplex je 0,1%
B 7	4,5	Zusatz: Fe(II)sulfat 1 mmol
B 8	4,5	Zusatz: Benzoylperoxid 1 mmol
B 9	4,5	Wasserphase nicht inertbegast
B 10	4,5	Wasserphase 30 min mit Sauerstoff begast
B 11	4,5	Herstellung unter Ausschluß von Luftsauerstoff
B 12	4,5	Wasserphase: 57,5% Wasser, 20% Glycerol 85%
B 13	4,5	Wasserphase: 67,5% Wasser, 10% Glycerol 85%
B 14	4,5	Wasserphase: 77,5% Wasser
B 15	6,0	keine
B 16	6,0	Zusatz: Na-EDTA 0,1%
B 17	6,0	Zusatz: Na-Pyrosulfit 0,1%
B 18	6,0	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1%
B 19	6,0	Zusatz: Na-EDTA/Na-Pyrosulfit/Oxyplex je 0,1%
B 20	6,0	Zusatz: Fe(II)sulfat 1 mmol
B 21	6,0	Zusatz: Benzoylperoxid 1 mmol
B 22	6,0	Tensid vor Verarbeitung 4 Wochen unter Tageslicht
B 23	6,0	Wasserphase 30 min mit Sauerstoff begast
B 24	6,0	Wasserphase: 67,5% Wasser, 10% Glycerol 85%
B 25	4,75	keine
B 26	5,0	keine
B 27	5,25	keine
B 28	5,5	keine
B 29	8,0	keine

Tab. 17 Abwandlungen der Grundrezeptur bei der Herstellung der Betamethason-17-valerat-Cremes

Ziel der Untersuchungen war es, Auswirkungen verschiedener Stabilisierungs- und Destabilisierungsmaßnahmen auf den Wirkstoffgehalt der Cremes zu ermitteln, Unterschiede der Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroidesters im Vergleich zu Hydrocortison abzuklären und damit die Voraussetzung für die Herstellung möglichst stabiler O/W-Cremes mit dem Wirkstoff zu schaffen.

Die quantitative Erfassung des Steroids erfolgte mittels einer stabilitätsspezifischen HPLC-Methode.

Untersuchungszeitpunkte sowie Lagertemperaturen der Zubereitungen wurden wie bei den hydrocortisonhaltigen Rezepturen gewählt.

2.1 Einfluß der Lagertemperatur

Zur Untersuchung der Temperaturabhängigkeit der Zersetzung von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes wurden die selbsthergestellten Zubereitungen bei 20°, 25° und 35°C gelagert.

Bei Bestimmung der durchschnittlichen Abbauraten aus 19 untersuchten Zubereitungen zeigte sich nach einjähriger Lagerung eine geringer ausgeprägte Temperaturabhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroidesters als in den vergleichbaren hydrocortisonhaltigen Rezepturen.

So ergab sich bei einer Lagerung bei 20°C ein durchschnittlicher Wirkstoffverlust von 10,9% vom Ausgangsgehalt. Für die Lagertemperatur von 25°C wurde eine mittlere Abbaurrate von 13,7% und bei Aufbewahrung bei 35°C von 24,9% ermittelt. Während der Mittelwert der Lagerung bei 20°C ungefähr dem durchschnittlichen Hydrocortisonabbau entsprach, lagen die mittleren Zersetzungsraten des Betamethason-17-valerats bei höheren Lagertemperaturen deutlich unter den vergleichbaren Werten für Hydrocortison.

Wie Abbildung 26 am Beispiel der Rezeptur B 1 verdeutlicht, bewirkte die Erhöhung der Lagertemperatur von 20° auf 25°C bei zahlreichen untersuchten Zubereitungen nur eine geringfügige Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit des Betamethason-17-valerats.

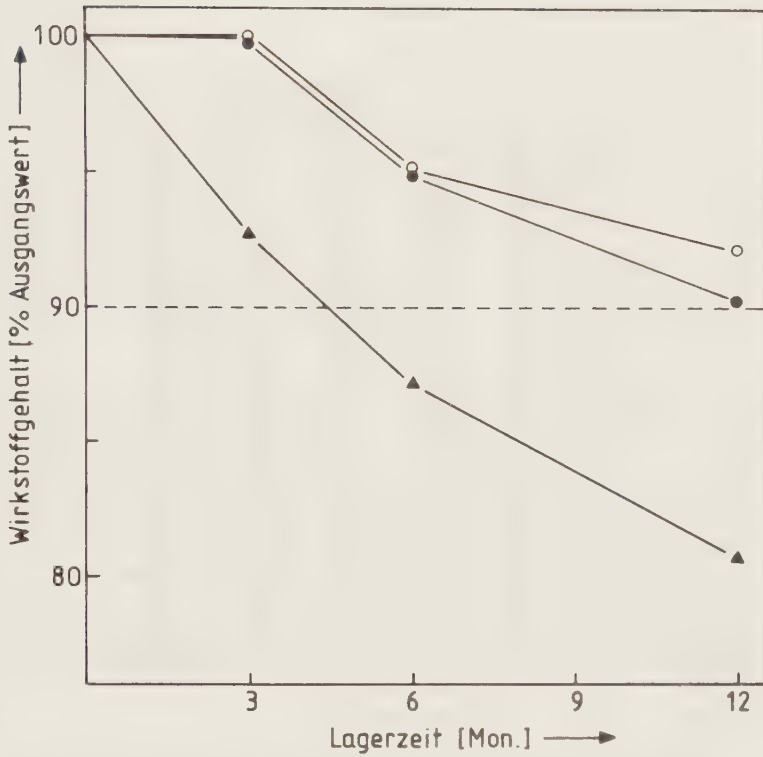


Abb. 26 Abbau von Betamethason-17-valerat in Charge B 1
in Abhängigkeit von der Lagertemperatur und der
Lagerzeit

-○- 20°C -●- 25°C -▲- 35°C

2.2 Einfluß des pH-Wertes der Wasserphase

In wäßrigen Pufferlösungen ermittelten BUNDGAARD und HANSEN (62) für Betamethason-17-valerat die höchste Stabilität bei pH 3,5.

Zur Abklärung der pH-Abhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroidesters in O/W-Emulsionen wurden in die vorliegenden Untersuchungen sieben Rezepturen mit unterschiedlich gepufferten Wasserphasen im pH-Bereich zwischen 4,5 und 8,0 einbezogen (Rezepturen B 1, B 15, B 25 - 29). Die Ionenstärke betrug dabei konstant 0,05. Im pH-Bereich zwischen 4,5 und 5,5 wurde Acetatpuffer eingesetzt. Die Einstellung auf pH 6,0 und 8,0 erfolgte unter Verwendung von Phosphatpuffer.

Wie aus Abbildung 27 ersichtlich ist, ergaben sich im pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,0 bei Lagertemperaturen von 20° und 25°C keine signifikanten Unterschiede der Wirkstoffstabilität. Alle Zubereitungen besaßen nach sechsmonatiger Lagerzeit einen unzersetzten Wirkstoffgehalt von ungefähr 95% des Ausgangswertes. Die Ergebnisse der bei 35°C gelagerten Cremes zeigten dagegen eine Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroidesters mit steigendem pH-Wert der Wasserphase. Im Gegensatz zu Hydrocortison erwies sich Betamethason-17-valerat damit in den untersuchten O/W-Cremes am stabilsten bei einem pH-Wert der Wasserphase von 4,5.

In der Rezeptur von pH 8,0 wurde der Wirkstoff sehr rasch zersetzt. Die Abbaugeschwindigkeit des Steroidesters bei alkalischem pH-Wert der Wasserphase war sogar höher als bei Hydrocortison. Nach einjähriger Lagerung bei 20°C betrug der Gehalt an unzersetztem Betamethason-17-valerat in dieser Rezeptur nur noch 47,1% des Ausgangswertes. Wie aus Abbildung 27 zu entnehmen ist, zeigte sich unter Basenkatalyse, im Gegensatz zu den anderen untersuchten pH-Werten, ein deutlicher Unterschied der Zersetzungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes zwischen Lagertemperaturen von 20° und 25°C.

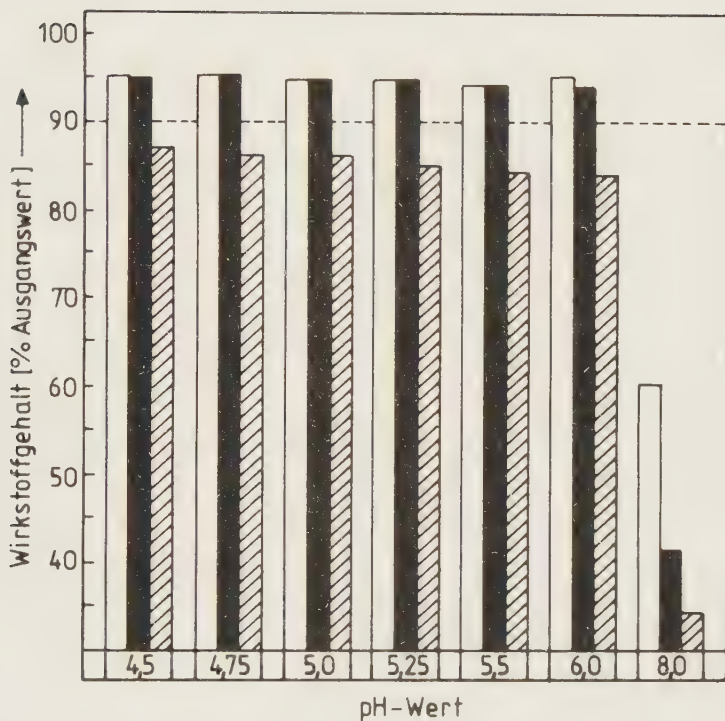


Abb. 27 Einfluß des pH-Wertes der Wasserphase auf den Abbau von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 6 Monate

□ 20°C

■ 25°C

▨ 35°C

2.3 Auswirkung von Schwermetallverunreinigungen

Um den Einfluß von Schwermetallionen auf die Zersetzungsgeschwindigkeit von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes abzuklären, wurden Rezepturen mit Wasserphasen von pH 4,5 und 6,0 unter Zusatz von Fe^{2+} -Ionen durchgeführt (Rezepturen B 7, B 20) und der Wirkstoffverlust dieser Zubereitungen in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit verfolgt. Weiterhin wurde unter gleichen Versuchsbedingungen der Einfluß des Komplexbildners Na-EDTA auf die Steroidstabilität untersucht (Rezepturen B 2, B 16).

Wie aus Abbildung 28 hervorgeht, bewirkte die Zugabe von Eisenionen einen deutlichen Stabilitätsverlust des Steroidesters. Die Ergebnisse zeigen aber auch, daß die Schwermetallkatalyse bei der Zersetzung von Betamethason-17-valerat weniger ausgeprägt ist als bei Hydrocortison.

Eine signifikante pH-Abhängigkeit des Schwermetalleinflusses wurde nicht ermittelt. Die Rezeptur von pH 6,0 zeigte einen geringfügig höheren Wirkstoffverlust.

Der Zusatz von Na-EDTA ergab eine Verbesserung der Wirkstoffstabilität im Vergleich zur unbehandelten Rezeptur B 1. Der stabilisierende Einfluß war jedoch geringer als bei vergleichbaren Untersuchungen an Hydrocortison.

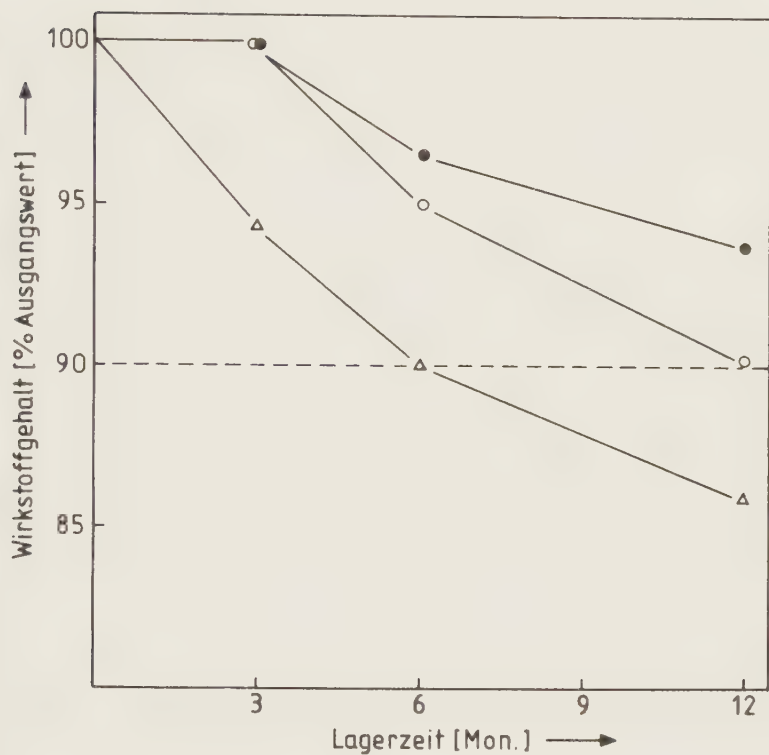


Abb. 28 Einfluß von Schwermetallionen auf den Abbau von
Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhän-
gigkeit von der Lagerzeit

Lagertemperatur: 25°C

Wasserphase pH 4,5

-o- Charge B 1 (Ausgangsrezeptur)

-●- Charge B 2 (Zusatz Na-EDTA)

-Δ- Charge B 7 (Zusatz Fe^{2+})

2.4 Auswirkung peroxidischer Verunreinigungen

Zur Überprüfung möglicher Auswirkungen von Peroxiden auf die Lagerstabilität von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes wurden Rezepturen unter Zugabe von Benzoylperoxid hergestellt. Die Versuche erfolgten wiederum parallel in Zubereitungen von pH 4,5 und 6,0 (Rezepturen B 8, B 21).

Ferner wurde der Wirkstoff in eine Cremegrundlage von pH 6,0 eingearbeitet, deren Tensid (Polysorbat 60) vor der Herstellung vier Wochen dem Tageslicht ausgesetzt worden war (Rezeptur B 22). Dieser Versuch galt der Abklärung möglicher Auswirkungen photokatalysierter Autoxidationsvorgänge der Polyethylenglykoleinheiten des Tensids auf die Steroidstabilität.

Zur Untersuchung des Einflusses oxidationshemmender Stabilisatoren auf die Zersetzungsgeschwindigkeit von Betamethason-17-valerat wurden neben dem schon diskutierten Komplexbildner Zusätze von Natriumpyrosulfit, Oxyxex[®] sowie Kombinationen dieser drei Substanzen überprüft (Rezepturen B 2 - 6, B 16 - 19).

Wie Abbildung 29 zeigt, wirkte sich der Peroxidzusatz destabilisierend auf den Steroidester in O/W-Emulsionen aus. Bei pH 6,0 war dieser Einfluß größer als bei pH 4,5 und bewirkte einen rascheren Wirkstoffabbau als in der vergleichbaren hydrocortisonhaltigen Rezeptur.

Die Zersetzung des Betamethason-17-valerats wurde durch Benzoylperoxid stärker katalysiert als durch Eisenionen.

Wie ferner der Abbildung 29 zu entnehmen ist, hatte dagegen die Verwendung des UV-belasteten Tensids einen geringen Einfluß auf die Wirkstoffstabilität.

Der Zusatz von Natriumpyrosulfit führte im Vergleich zur Ausgangsrezeptur nach einjähriger Lagerung bei 25°C und einer Wasserphase von pH 6,0 zu einem Stabilisierungseffekt von etwa 4%. Bei pH 4,5 wurde eine Verbesserung der Wirkstoffstabilität von ungefähr 3% ermittelt.

Der Einfluß weiterer Stabilisatoren sowie ihrer Kombinationen soll im folgenden diskutiert werden.

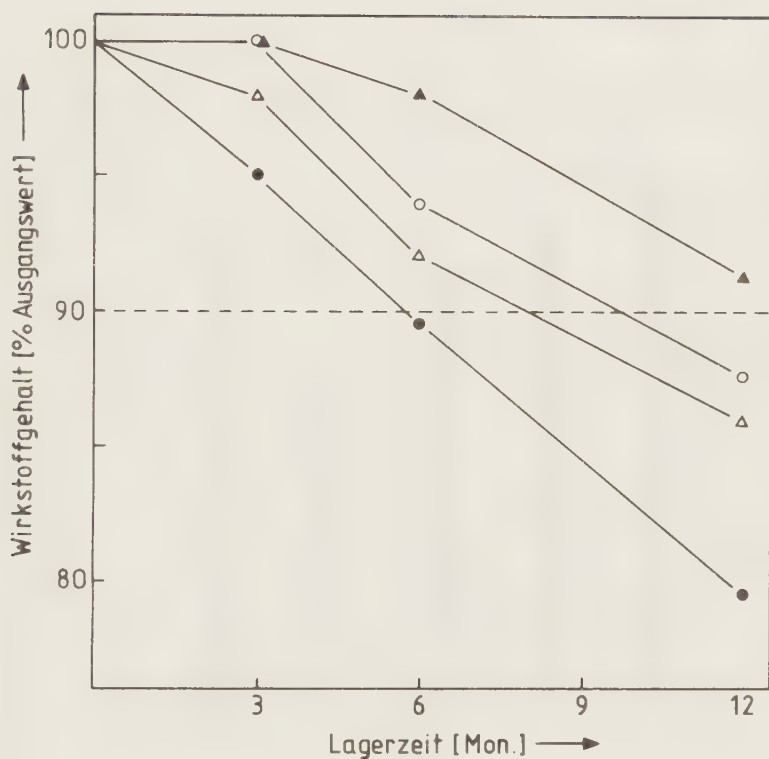


Abb. 29 Einfluß von Peroxiden auf den Abbau von Beta-methason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagerzeit

Lagertemperatur: 25°C

Wasserphase pH 6,0

- o- Charge B 15 (Ausgangsrezeptur)
- Charge B 21 (Zusatz Benzoylperoxid)
- Δ- Charge B 22 (Tensid UV-belastet)
- ▲- Charge B 17 (Zusatz Na-Pyrosulfit)

2.5 Einfluß von Luftsauerstoff

Weitere Versuche zur Stabilität von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes galten der Abklärung des Einflusses von Luftsauerstoff auf die Zersetzungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes.

Wie schon bei den Ergebnissen zur Untersuchung hydrocortisonhaltiger Zubereitungen dargelegt, muß bei den im Rezepturmaßstab hergestellten Cremes trotz Inertbegasung der Wasserphase mit Anwesenheit von Luftsauerstoff gerechnet werden.

Zur Beurteilung der quantitativen Auswirkung von Sauerstoff auf die Zersetzungsgeschwindigkeit von Betamethason-17-valerat wurden daher folgende Rezepturvariationen vorgenommen:

- Kein Auskochen und keine Inertbegasung der Wasserphase (Rezeptur B 9)
- Begasung der Wasserphase mit Sauerstoff während 30 min (Rezeptur B 10)
- Herstellung einer Zubereitung im geschlossenen System unter Ausschluß von Luftsauerstoff (Rezeptur B 11)

Der pH-Wert der Wasserphase betrug für alle Rezepturen dieser Teiluntersuchung 4,5. Die Begasung der Wasserphase mit Sauerstoff erfolgte zusätzlich bei einer Zubereitung von pH 6,0 (Rezeptur B 23).

Wie aus Abbildung 30 zu entnehmen ist, wirkte sich eine zunehmende Sauerstoffbelastung der Cremes destabilisierend auf den enthaltenen Wirkstoff aus.

Erwartungsgemäß war die Abbaugeschwindigkeit des Steroidesters bei Begasung der Wasserphase mit Sauerstoff am größten. Dabei ließ sich kein signifikanter Unterschied der Zersetzungsrate in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase feststellen.

Wie Abbildung 30 weiterhin zeigt, erbrachte dagegen der Ausschluß von Luftsauerstoff durch Herstellung einer Rezeptur im geschlossenen System für den Wirkstoff Betamethason-17-valerat keine so deutliche Stabilitätsverbesserung wie für die vergleichbare hydrocortisonhaltige Zubereitung. Während

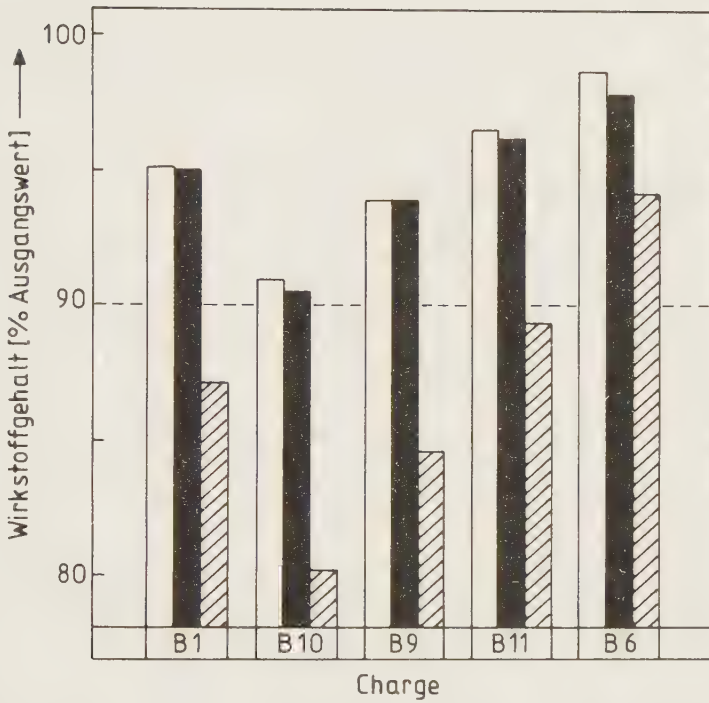


Abb. 30 Einfluß von Luftsauerstoff auf den Abbau von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 6 Monate

Wasserphase pH 4,5

□ 20°C

■ 25°C

▨ 35°C

Hydrocortison unter diesen Herstellungsbedingungen ähnlich stabil war wie bei Zusatz einer Stabilisatorkombination aus Komplexbildner, Redoxstabilisator und Antioxidans, zeigte sich die stabilisierte Rezeptur mit Betamethason-17-valerat (Rezeptur B 6) der im geschlossenen System hergestellten Zubereitung (Rezeptur B 11) überlegen.

2.6 Einfluß der Dielektrizitätskonstante

Zur Überprüfung einer möglichen Abhängigkeit der Stabilität des Steroidesters von der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase in O/W-Cremes wurde im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen das Glycerin/Wasser-Mischungsverhältnis der Wasserphase variiert (Rezepturen B 12 - 14, B 24).

Die Berechnung der aus Tabelle 18 ersichtlichen Dielektrizitätskonstanten der Wasserphasen bei 20°C ist bei der entsprechenden Untersuchung von Hydrocortison angegeben.

Charge	Wasserphase [Gew. %]	Wassergehalt [Gew. %]	Glycerin- gehalt [Gew. %]	Glyceringehalt der Wasserphase [Gew. %]	Dielektrizitäts- konstante DK 20°C
B 12	77,5	60,5	17,0	28,1	72,35
B 13/B 24	77,5	69,0	8,5	12,3	76,87
B 14	77,5	77,5	0	0	80,37

Tab. 18 Dielektrizitätskonstanten der Wasserphasen unter-
suchter Betamethason-17-valerat-Cremes

Wie Abbildung 31 zeigt, ergaben sich in den Cremes von pH 4,5 keine signifikanten Unterschiede der Wirkstoffstabilität zwischen den Rezepturen B 12 (DK = 72,35) und B 13 (DK = 76,87).

Auch bei der Untersuchung der Zubereitung von pH 6,0 (Rezeptur B 24; DK = 76,87) ließ sich keine wesentliche Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit feststellen.

Wie aus Abbildung 31 aber ebenfalls ersichtlich ist, bewirkte

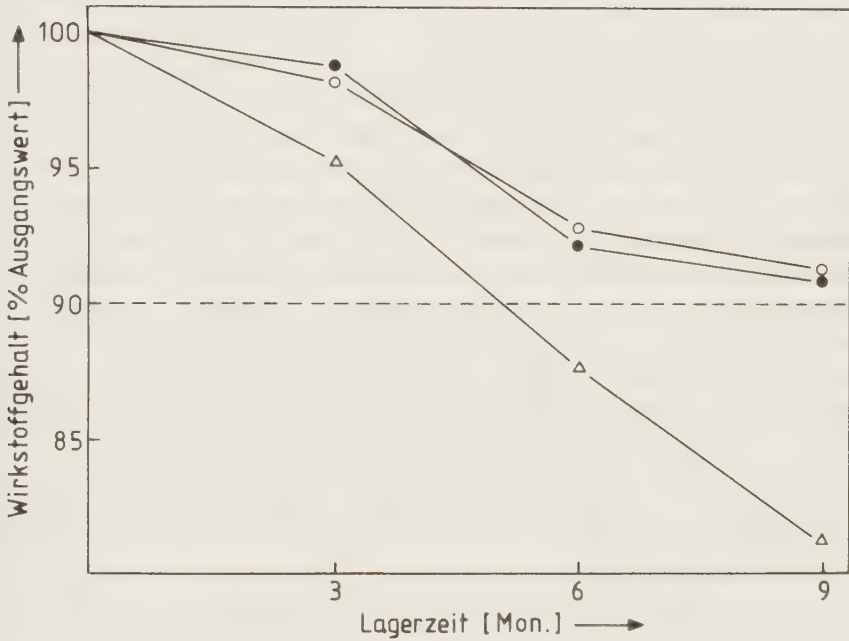


Abb. 31 Einfluß der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase auf den Abbau von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagerzeit

Lagertemperatur: 20°C

Wasserphase pH 4,5

-○- Charge B 12 (DK = 72,35)

-●- Charge B 13 (DK = 76,87)

-△- Charge B 14 (DK = 80,37)

die weitere Erhöhung der Dielektrizitätskonstante bei völligem Verzicht auf Glycerin (Rezeptur B 14) einen deutlich erhöhten Stabilitätsverlust des Steroidesters.

2.7 Diskussion der Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse von 29 hergestellten O/W-Cremes mit dem Wirkstoff Betamethason-17-valerat ergaben eine im Vergleich zu Hydrocortison geringer ausgeprägte Temperaturabhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit des Steroidesters. Zwischen Lagertemperaturen von 20° und 25°C wurden oftmals nur geringfügige Unterschiede des Wirkstoffverlustes festgestellt. Eine Streßbelastung von 35°C wirkte sich, mit Ausnahme einiger Zubereitungen, weniger katalysierend auf die Abbaugeschwindigkeit aus als in vergleichbaren Hydrocortisoncremes.

Das Ausmaß weiterer Einflußfaktoren auf die Stabilität von Betamethason-17-valerat ist in Tabelle 19 zusammengefaßt.

Destabilisierende Faktoren	Ausmaß des Einflusses		Stabilisierende Faktoren*
alkalischer pH-Wert	- - -	+	Zusatz Antioxidans
Erhöhung DK-Wert (glycerinfrei)	- -	+	Zusatz Redoxstabilisator
peroxidische Verunreinigungen	- -	+	Zusatz Komplexbildner
(Luft-) Sauerstoff	-	+	Ausschluß von Luft- sauerstoff
Schwermetallverunreinigungen	-	++	Zusatz Redoxstabilisator, Komplexbildner, Antioxidans

Tab. 19 Einflußfaktoren auf die Stabilität von Betamethason-17-valerat in O/W-Emulsionen

* bei pH 4,5

- geringe Stabilitätsminderung
- - Stabilitätsminderung
- - - sehr starke Stabilitätsminderung
- + geringe Stabilisierung
- + + Stabilisierung

Entstehung der Zersetzungsprodukte in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase

Betamethason-17-valerat zeigte im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen die größte Stabilität bei einem pH-Wert der Wasserphase von 4,5. Bei niedrigen Lagertemperaturen ergaben sich jedoch keine wesentlichen Unterschiede der Zersetzungsgeschwindigkeit im pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,0. Bei alkalischem pH-Wert der Wasserphase wurde der Steroidester sehr rasch abgebaut. Wie Abbildung 32 zeigt, verläuft der erste Abbauschritt des Betamethason-17-valerats, die Umlagerung zum thermodynamisch stabileren Betamethason-21-valerat, unter Basenkatalyse schneller (62,63).

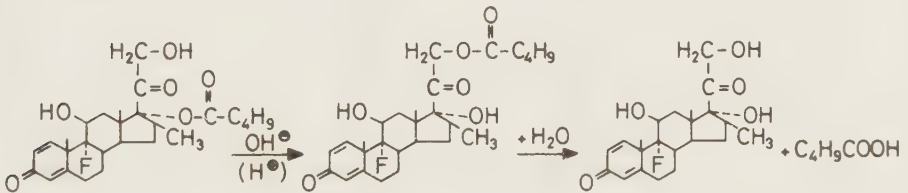


Abb. 32 Umlagerung und Hydrolyse von Betamethason-17-valerat im wäßrigen Milieu

Wie aus Abbildung 33 ersichtlich ist, ergab sich bei Auswertung der HPLC-Chromatogramme der Rezepturen von pH 4,5 (Rezeptur B 1) und pH 8,0 (Rezeptur B 29) ein höherer Gehalt an freiem Betamethason in der Zubereitung mit alkalischem pH-Wert. Die Menge an Betamethason-17-valerat war dagegen in beiden Cremes etwa gleich groß. Die Hydrolyse des C-21-Esters scheint also unter alkalischen Bedingungen in O/W-Cremes direkt auf die Umlagerungsreaktion zu erfolgen. Ferner zeigt Abbildung 33 B die Entstehung zweier polarer Folgeabbauprodukte des Betamethasons unter alkalischen Bedingungen. Es ist anzunehmen, daß es sich hierbei um C-17- und C-21-Carbonsäuren handelt.



Abb. 33 HPLC-Bestimmung von Betamethason-17-valerat und seinen Abbauprodukten aus O/W-Cremes in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase (Stationäre Phase: Radial-Pak C 18; Mobile Phase: Methanol 80 T, Wasser 19,5 T, Diisopropylether 0,5 T; Durchfluß: 4 ml/min)

Lagertemperatur: 20°C, Lagerzeit: 12 Monate

A Charge B 1 (pH 4,5) 1 Betamethason-17-valerat

B Charge B 29 (pH 8,0) 2 Betamethason-21-valerat

3 Betamethason

4 Sorbinsäure

Z_s saure Folgezersetzungs-
produkte des Betamethasons

Entstehung der Zersetzungsprodukte unter Einfluß oxidationsfördernder Zusätze

Die oxidationsfördernden Destabilisierungsmaßnahmen hatten überwiegend geringere Auswirkungen auf die Stabilität von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes als auf den Abbau von Hydrocortison in vergleichbaren Zubereitungen. Ursache dafür ist der Abbauweg des Steroidesters im wäßrigen Medium, dessen erste Reaktionsschritte keine Oxidationsreaktionen darstellen (vgl. Abb. 32).

Erst nach erfolgter Hydrolyse zu freiem Betamethason kann die C-17-Seitenkette des Steroidalkohols oxidativer Folgezersetzung unterliegen. So bewirkten stark oxidationsfördernde Einflußfaktoren, wie der Zusatz von Benzoylperoxid oder die Begasung der Wasserphase mit Sauerstoff, in den betreffenden Zubereitungen dann auch eine signifikante Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit. Wie Abbildung 34 A zeigt, entstanden durch Peroxideinfluß (Rezeptur B 8) neben den in allen untersuchten Zubereitungen nachweisbaren Abbauprodukten Betamethason-21-valerat und Betamethason zusätzlich ein saures und ein neutrales Folgezersetzungsprodukt des Betamethasons.

Entstehung der Zersetzungsprodukte in Abhängigkeit von der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase

Während die Dielektrizitätskonstante der Wasserphase in bestimmten Bereichen keinen Einfluß auf die Zersetzung des Steroidesters nahm, wirkte sich eine deutliche Erhöhung des DK-Wertes durch Verzicht auf Glycerin stabilitätsmindernd auf den Wirkstoff aus (Rezeptur B 14). Das zugehörige HPLC-Chromatogramm dieser Rezeptur (Abbildung 34 B) zeigt eine Zunahme des Hydrolyseproduktes Betamethason. Oxidative Folgezersetzungsprodukte traten unter diesen Bedingungen nicht auf. Im Unterschied zu Hydrocortison wird der Abbau des Steroidesters demnach direkt durch die erhöhte Polarität der Wasserphase beschleunigt, da das entstehende Hydrolyseprodukt polarer ist als der C-17-Ester.



Abb. 34 HPLC-Bestimmung von Betamethason-17-valerat und seinen Abbauprodukten aus O/W-Cremes in Abhängigkeit verschiedener Destabilisierungsmaßnahmen (Stationäre Phase: Radial-Pak C 18; Mobile Phase: Methanol 80 T, Wasser 19,5 T, Diisopropylether 0,5 T; Durchfluß: 4 ml/min)

Lagertemperatur: 20°C, Wasserphase pH 4,5

- | | | | |
|---|-----------------------------|---|-------------------------|
| A | Charge B 8 (Zusatz Peroxid) | 1 | Betamethason-17-valerat |
| | Lagerzeit 12 Monate | 2 | Betamethason-21-valerat |
| B | Charge B 14 (DK = 80,37) | 3 | Betamethason |
| | Lagerzeit 9 Monate | 4 | Sorbinsäure |

Z_s = saure / Z_n = neutrale
Folgezersetzungspro-
dukte des Betamethasons

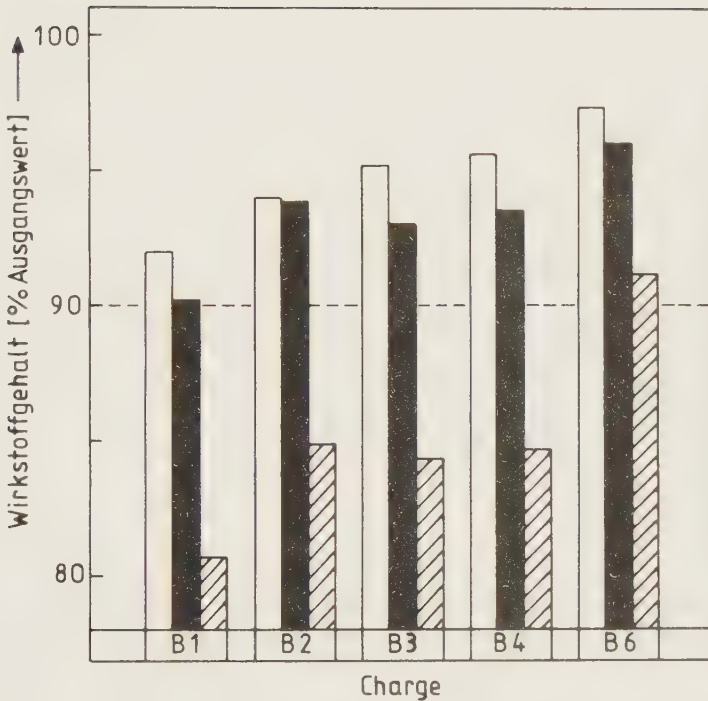


Abb. 35 Einfluß verschiedener Stabilisatorzusätze auf
den Abbau von Betamethason-17-valerat in O/W-
Cremes in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 12 Monate

Wasserphase pH 4,5

Charge B 1: Ausgangsrezeptur

Charge B 2: Zusatz Na-EDTA

Charge B 3: Zusatz Na-Pyrosulfit

Charge B 4: Zusatz Na-EDTA, Na-Pyrosulfit

Charge B 6: Zusatz Na-EDTA, Na-Pyrosulfit, OxyneX®

□ 20°C

■ 25°C

▨ 35°C

Stabilitätsverbessernde Maßnahmen

Die Herstellung einer Creme mit dem Wirkstoff Betamethason-17-valerat unter Ausschluß von Luftsauerstoff im geschlossenen System einer Kleinprozeßanlage ergab keine ähnlich wirkungsvolle Stabilitätsverbesserung wie bei Hydrocortison. Auch dieses Ergebnis erklärt sich durch die Tatsache, daß Oxidationsreaktionen beim Abbau von Betamethason-17-valerat erst sekundär eine Rolle spielen.

Der Zusatz oxidationshemmender Stabilisatoren erbrachte zwar eine Verminderung der Zersetzungsgeschwindigkeit, war aber ebenfalls weniger effektiv als bei den hydrocortisonhaltigen Rezepturen. Abbildung 35 zeigt den Einfluß der einzelnen Stabilisatorzusätze sowie ihrer Kombinationen auf den Abbau von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes.

Schlußfolgerung

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß Betamethason-17-valerat aufgrund seiner geringeren Anfälligkeit gegenüber Oxidationsreaktionen bei Wahl eines geeigneten pH-Wertes der Wasserphase durch Temperaturerhöhung oder oxidationsfördernde Maßnahmen weniger in seiner Stabilität beeinflusst wird als Hydrocortison. Gleichzeitig erwiesen sich auch alle untersuchten Stabilisierungsmaßnahmen als weniger effektiv. Durch Kombination eines Komplexbildners, eines Redoxstabilisators sowie eines Antioxidans bei einer Wasserphase von pH 4,5 gelang es jedoch, die Voraussetzungen zur Herstellung einer stabilen Creme zu schaffen, bei der im Verlauf einer einjährigen Lagerung bei 20°C lediglich ein Wirkstoffverlust von etwa 3% eintritt.

3. Untersuchungen zur Zersetzungskinetik von Hydrocortison und Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes

Der Abbau von Corticosteroiden in halbfesten Zweiphasensystemen führt nicht zu einem definierten Zersetzungsprodukt, sondern umfaßt in der Regel eine Vielzahl von Parallel- und Folgereaktionen mit entsprechend zahlreichen Zwischen- und Endprodukten.

Im Rahmen der vorliegenden Stabilitätsuntersuchungen an Hydrocortison und Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes zeigte sich, daß diese komplexen Reaktionen die Erstellung einer für den gesamten Zersetzungsverlauf gültigen Reaktionsordnung verhindern.

Die halblogarithmische Auftragung der Wirkstoffabnahme in Abhängigkeit von der Lagerzeit ergab zwar bei Lagertemperaturen von 20° und 25°C im allgemeinen Geraden, bei einer Lagertemperatur von 35°C zeigte sich jedoch keine lineare Abhängigkeit mehr.

Die Temperaturabhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit von Hydrocortison und Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes läßt sich daher nicht durch die für zahlreiche homogene Systeme gültige Arrheniusbeziehung beschreiben.

Für diese Tatsache können folgende Ursachen verantwortlich sein:

- Der Abbau der C-17-Seitenkette von Corticosteroiden besteht aus einer Reihe von Reaktionsschritten und ist von mehreren Einflußfaktoren abhängig. Der Ausgangsstoff kann in Parallel- und Folgereaktionen oxidativer Zersetzung, nichtoxidativer Dehydratation oder hydrolytischer Spaltung unterliegen. Auch Umlagerungsreaktionen treten auf. Solche komplexen Reaktionen können im allgemeinen nicht durch Gleichungen 0., 1., 2. oder 3. Ordnung beschrieben werden (124).
- Kinetische Methoden besitzen nur bei flüssigen, homogenen Systemen strenge Gültigkeit (110,124,126). Bei den hier untersuchten Zubereitungen handelt es sich jedoch um halbfeste O/W-Emulsionen mit suspendiertem Wirkstoff. In der-

artigen heterogenen Systemen spielt der Verteilungskoeffizient des Wirkstoffes zwischen den beiden Phasen für die Zersetzung eine wichtige Rolle (37), da der gelöste Wirkstoffanteil Abbaureaktionen eingeht. Mit steigender Temperatur erhöht sich aber die Löslichkeit der Steroide sowohl in der Fett- als auch in der Wasserphase.

- Für Steroide sind Kristallmodifikationen unterschiedlicher thermodynamischer Aktivität bekannt. Aufgrund beschleunigter Umwandlung polymorpher Kristalle bei erhöhter Lagertemperatur können wiederum Löslichkeitsunterschiede auftreten.

Eine veränderte Steroidlöslichkeit kann weiterhin ein Partikelwachstum in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit zur Folge haben. Es ist nicht auszuschließen, daß ein veränderter Dispersitätsgrad Einfluß auf die Zersetzungsgeschwindigkeit der Corticosteroide hat.

Aus den angeführten Gründen wurde auf eine vollständige Berechnung reaktionskinetischer Parameter verzichtet. Die Haltbarkeit der Corticosteroidcremes in Abhängigkeit verschiedener Stabilisierungszusätze, des pH-Wertes der Wasserphase sowie der Lagertemperatur wurde aber auf der Basis graphisch ermittelter $t_{90\%}$ -Zeiten verglichen. Da bei einigen Zubereitungen nach einer Lagerzeit von einem Jahr bzw. 9 Monaten bei Temperaturen von 20° und 25°C noch keine Gehaltsminderung von 10% festzustellen war, wurde in diesen Fällen eine Berechnung der Haltbarkeit ($t_{90\%}$) mittels Regressionsgeraden durchgeführt. Bis zu einer Zersetzung von etwa 15% spielt die Reaktionsordnung keine entscheidende Rolle, und es ist daher in diesem Bereich üblich, diejenige Ordnung zur Berechnung von $t_{90\%}$ zugrunde zu legen, bei der man mit den vorhandenen Analysendaten die beste Linearität erzielt (37). Bei den vorliegenden Untersuchungen ergab die Auftragung $\log C = f(t)$ bei 20° und 25°C Lagertemperatur annäherungsweise Geraden.

Für Hydrocortison wurden bei der Regressionsrechnung für die Lagerung bei 20°C Korrelationskoeffizienten zwischen 0,9235 und 0,9992 errechnet, bei der Lagertemperatur von 25°C zwischen 0,9453 und 0,9991.

Die Regressionsrechnung für Betamethason-17-valerat ergab bei 20°C Korrelationskoeffizienten zwischen 0,9558 und 0,9840, bei 25°C zwischen 0,9460 und 0,9980.

In den Abbildungen 36 und 37 sind die $t_{90\%}$ /Lagertemperatur-Profile der Zersetzung von Hydrocortison bzw. Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhängigkeit verschiedener Stabilisierungszusätze halblogarithmisch dargestellt.

Wie Abbildung 36 zeigt, ist die unter Zusatz einer Kombination aus Komplexbildner, Redoxstabilisator und Antioxidans stabilisierte Hydrocortisoncreme von pH 6,0 (Rezeptur H 14) bei einer Lagertemperatur von 20°C ungefähr acht Jahre haltbar. Bei gleichem pH-Wert, aber ohne Stabilisierungszusätze (Rezeptur H 9) wird dagegen schon nach weniger als zwei Jahren ein zehnprozentiger Wirkstoffverlust erreicht.

Für den Wirkstoff Betamethason-17-valerat läßt sich unter Verwendung der gleichen Stabilisatorkombination und einem pH-Wert der Wasserphase von 4,5 (Rezeptur B 6) nur eine Haltbarkeit von dreieinhalb Jahren bei Lagerung bei 20°C erzielen (Abbildung 37). Ohne Stabilisierungszusätze ist dieser Wirkstoff unter gleichen Bedingungen bereits nach 14 Monaten zu zehn Prozent abgebaut (Rezeptur B 1).

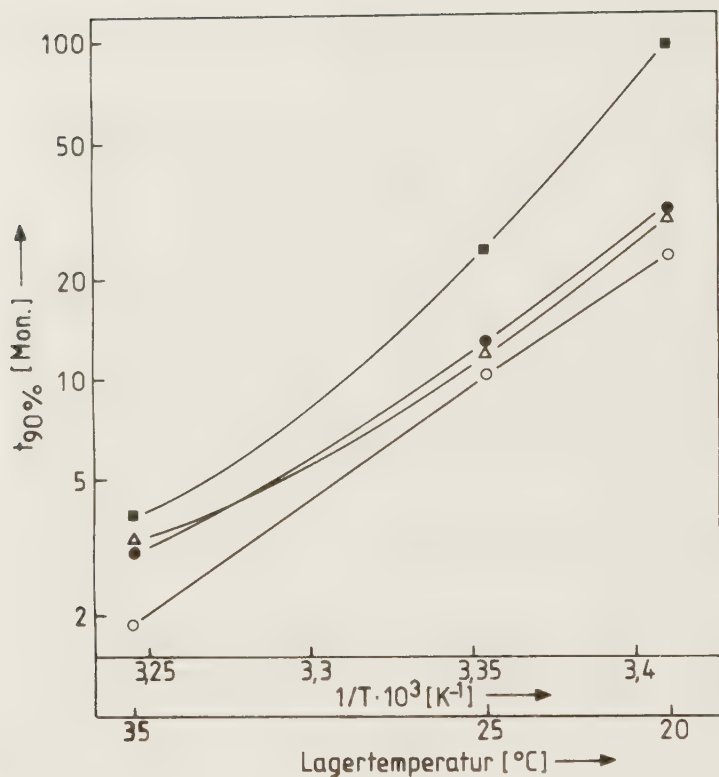


Abb. 36 $t_{90\%}$ /Lagertemperatur-Profile der Zersetzung von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit verschiedener Stabilisierungszusätze

Wasserphase pH 6,0

- Charge H 9 (Ausgangsrezeptur)
- Charge H 10 (Zusatz Na-EDTA)
- △- Charge H 11 (Zusatz Na-Pyrosulfit)
- Charge H 14 (Zusatz Na-EDTA, Na-Pyrosulfit, Oxyne[®])

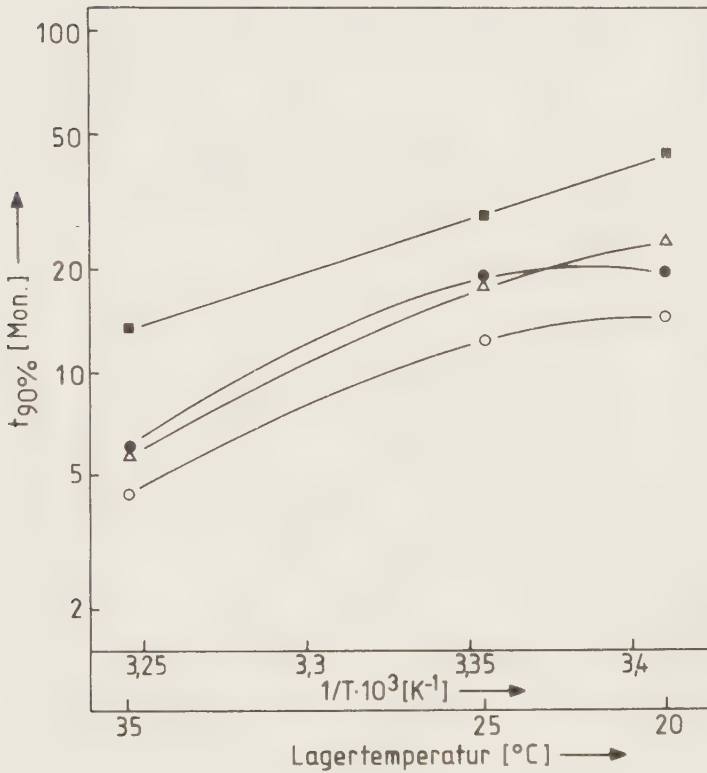


Abb. 37 $t_{90\%}$ /Lagertemperatur-Profile der Zersetzung von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhängigkeit verschiedener Stabilisierungszusätze

Wasserphase pH 4,5

- Charge B 1 (Ausgangsrezeptur)
- Charge B 2 (Zusatz Na-EDTA)
- △- Charge B 3 (Zusatz Na-Pyrosulfit)
- Charge B 6 (Zusatz Na-EDTA, Na-Pyrosulfit, Oxyner®)

In den Abbildungen 38 und 39 sind die ermittelten Haltbarkeitszeiten unstabilisierter Corticosteroidcremes in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase und der Lagertemperatur in Form von $\log t_{90\%}$ /pH-Wert-Darstellungen zusammengefaßt.

Der Vergleich der Kurvenverläufe bei Lagertemperaturen von 20° und 25°C beider Abbildungen verdeutlicht noch einmal die geringere Temperaturabhängigkeit der Zersetzung von Beta-methason-17-valerat.

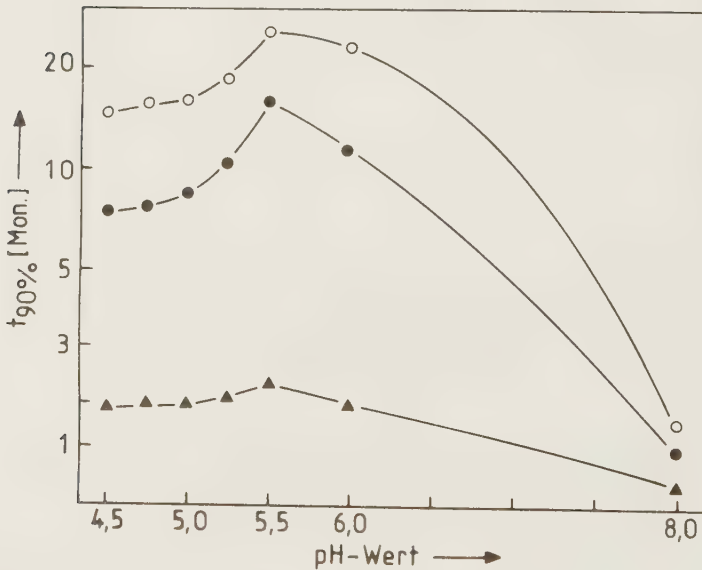


Abb. 38 $t_{90\%}$ /pH-Wert-Profile der Zersetzung von Hydrocortison in unstabilisierten O/W-Cremes

-○- 20°C

-●- 25°C

-▲- 35°C

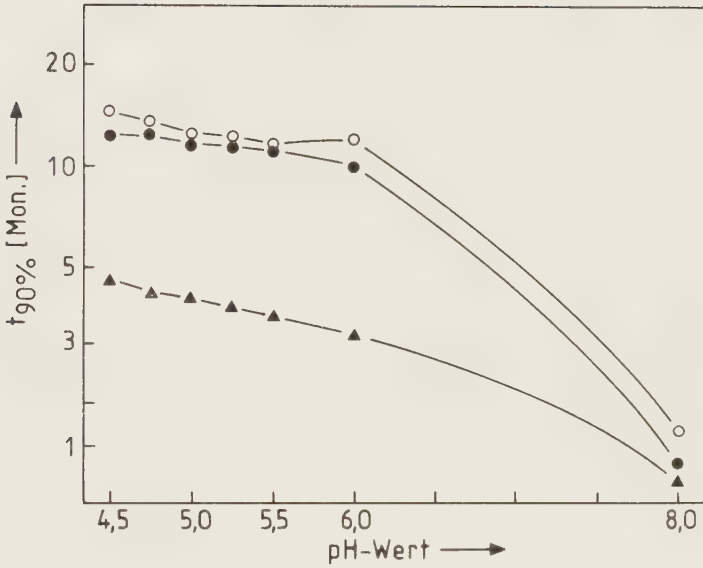


Abb. 39 $t_{90\%}$ /pH-Wert-Profile der Zersetzung von Beta-methason-17-valerat in unstabilisierten O/W-Cremes

-○- 20°C

-●- 25°C

-▲- 35°C

4. Beeinflussung physikalisch-chemischer Eigenschaften von Corticosteroidcremes in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit

4.1 Beeinflussung der Partikelgröße

Zur Herstellung der corticosteroidhaltigen O/W-Cremes wurden die Wirkstoffe Hydrocortison und Betamethason-17-valerat in mikronisierter Reinsubstanz eingesetzt.

Die mikroskopische Untersuchung des verwendeten Hydrocortisons ergab Teilchengrößen $< 1 - 30 \mu\text{m}$, wobei 95% der Kristalle im Größenbereich $< 1 - 10 \mu\text{m}$ lagen. Das verwendete Betamethason-17-valerat wies Partikelgrößen $< 1 - 50 \mu\text{m}$ auf, etwa 90% der Kristalle lagen ebenfalls im Streubereich $< 1 - 10 \mu\text{m}$.

Die im Rezepturmaßstab bereiteten Zubereitungen wurden nach Suspendierung des Wirkstoffes je viermal durch eine Salbenmühle (Dreiwälzenstuhl) gegeben. Die mikroskopische Untersuchung unmittelbar nach der Herstellung ergab homogene Wirkstoffverteilungen ohne Kristallagglomerate.

Bei der Herstellung der Cremes im geschlossenen System einer Kleinprozeßanlage war eine nachträgliche Behandlung mit einem Dreiwälzenstuhl nicht möglich, da der Ausschluß von Luftsaurestoff nicht mehr gewährleistet worden wäre. Die Homogenisierung dieser Zubereitungen erfolgte mittels eines am Boden des Rührkessels befindlichen Ultra-Turrax. Die Dispersität der Wirkstoffe war bei diesem Herstellungsverfahren weniger gut, da unter dem Mikroskop Teilchenagglomerate erkennbar waren.

Um mögliche Veränderungen der Partikelgrößen in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit abzuklären, wurden für jeden der beiden Wirkstoffe an zehn ausgewählten Rezepturen mikroskopische Bestimmungen der Teilchengrößen nach sechs- bzw. zwölfmonatiger Lagerung vorgenommen. Die Untersuchungen erfolgten in Anlehnung an die Vorschriften zur Teilchengrößenbestimmung in Suspensionssalben nach der Pharm. Helv. VI und dem 2. AB-DDR.

Wie Tabelle 20 zeigt, war in allen hydrocortisonhaltigen

Charge	Teilchengröße in μm													
	Untersuchungs- beginn		Lagerzeit 6 Monate						Lagerzeit 12 Monate					
			20°C		25°C		35°C		20°C		25°C		35°C	
	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y
H 1	<1-10	28	<1-10	24	<1-10	32	5-25	72	1-25	40	5-25	64	10-30	98
H 5	<1-10	24	<1-10	32	<1-10	28	5-20	64	1-15	48	1-15	60	10-25	80
H 6	<1-10	32	1-30	40	5-30	52	10-50	92	5-30	84	10-35	98	15-55	124
H 7	<1-10	26	1-20	28	1-20	48	10-40	78	5-25	68	5-25	80	10-40	108
H 9	<1-10	24	<1-10	20	<1-10	36	5-20	48	1-15	32	1-15	54	10-25	88
H 14	<1-10	16	<1-10	24	<1-10	18	5-15	52	1-15	36	1-15	60	5-30	82
H 19	<1-10	12	1-15	28	5-20	22	10-30	72	5-20	42	5-25	72	5-20	102
H 20*	<1-25	60	<1-25	52	<1-25	96	1-40	62	-	-	-	-	-	-
H 23	<1-10	32	1-20	48	1-25	64	15-50	104	-	-	-	-	-	-
H 28	<1-10	24	1-20	38	5-20	56	15-45	88	5-25	62	10-25	88	15-60	130

Tab. 20 Zunahme der Partikelgröße von Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit

x Größenbereich von 90% der Partikel
(Teilchengröße $\leq 1 - 100 \mu\text{m}$ Einteilung in
Klassenbreiten von $5 \mu\text{m}$
Teilchengröße $> 100 \mu\text{m}$ Einteilung in
Klassenbreiten von $10 \mu\text{m}$)

y größtes jeweils nachgewiesenes Partikel

* partiell Agglomeratbildung

Cremes mit zunehmender Lagerzeit und steigender Lagertemperatur ein Kristallwachstum zu verzeichnen.

Dennoch entsprachen die Zubereitungen nach sechs- bzw. zwölfmonatiger Lagerzeit bei allen Temperaturen den Forderungen der Pharm. Helv. VI. Die Anforderungen des 2. AB-DDR erfüllten nach einjähriger Lagerung bei 20°C fünf, bei 25°C drei Rezepturen.

Eine besonders rasche Zunahme der Partikelgröße zeigten die Zubereitungen, in denen Hydrocortison einer beschleunigten Zersetzung unterlag, wie beispielsweise unter Schwermetallkatalyse (Rezeptur H 6), vermehrter Sauerstoffbelastung (Rezeptur H 19) oder alkalischem pH-Wert der Wasserphase (Rezeptur H 28). Ferner war bei erhöhter Dielektrizitätskonstante der Wasserphase ein verstärktes Kristallwachstum festzustellen (Rezeptur H 23).

Auch in den Cremes mit Betamethason-17-valerat nahm die Kristallgröße des Wirkstoffes in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit zu. Wie aus Tabelle 21 hervorgeht, waren in den untersuchten Zubereitungen zu Lagerbeginn aufgrund der verwendeten Ausgangssubstanz vereinzelt größere Partikel zu finden. Die Zunahme der Teilchengrößen war bei beiden Wirkstoffen aber in etwa vergleichbar.

Nach einjähriger Lagerung entsprachen ebenfalls alle untersuchten Chargen mit Betamethason-17-valerat den Vorschriften des Schweizer Arzneibuches. Von sieben Rezepturen, die über einen Lagerzeitraum von zwölf Monaten untersucht wurden, erfüllten bei einer Lagertemperatur von 20°C fünf die Forderungen des 2. AB-DDR, bei 25°C entsprachen zwei Zubereitungen diesen Anforderungen.

Am stärksten ausgeprägt war das Kristallwachstum in der Rezeptur von pH 8,0 (Rezeptur B 29). Die erhöhte Dielektrizitätskonstante bewirkte ebenfalls ein vermehrtes Partikelwachstum (Rezeptur B 14). Der Einfluß anderer Destabilisierungsmaßnahmen war im Hinblick auf eine Veränderung des Dispersitätsgrades geringer ausgeprägt als in den hydrocortisonhaltigen Zubereitungen.

Charge	Teilchengröße in μm													
	Untersuchungs- beginn		Lagerzeit 6 Monate						Lagerzeit 12 Monate					
			20°C		25°C		35°C		20°C		25°C		35°C	
	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y	x	y
B 1	1-10	42	1-10	38	1-10	48	5-15	64	1-10	54	1-10	50	10-30	90
B 6	1-10	36	1-10	46	1-10	42	5-15	70	1-10	48	1-10	62	10-30	94
B 7	1-10	22	1-15	50	1-15	56	5-20	78	1-15	66	5-15	78	20-40	86
B 8	1-10	54	1-20	64	1-15	54	5-20	74	1-25	60	5-25	84	15-45	92
B 10	1-10	18	1-15	48	1-15	62	5-15	92	-	-	-	-	-	-
B 11*	1-60	80	1-55	76	1-60	82	5-55	78	-	-	-	-	-	-
B 14	1-10	28	1-20	56	5-20	76	5-65	94	-	-	-	-	-	-
B 15	1-10	20	1-10	34	1-10	30	5-15	58	1-10	52	1-10	60	10-35	98
B 19	1-10	44	1-10	36	1-10	44	5-15	60	1-10	58	1-10	98	10-30	74
B 29	1-10	32	5-25	58	5-25	72	5-45	92	5-55	84	10-30	96	25-65	148

Tab. 21 Zunahme der Partikelgröße von Betamethason-17-valerat in O/W-Cremes in Abhängigkeit von Lager-temperatur und Lagerzeit

x Größenbereich von 90% der Partikel
(Teilchengröße $\leq 1 - 100 \mu\text{m}$ Einteilung in
Klassenbreiten von $5 \mu\text{m}$
Teilchengröße $> 100 \mu\text{m}$ Einteilung in
Klassenbreiten von $10 \mu\text{m}$)

y größtes jeweils nachgewiesenes Partikel

* partiell Agglomeratbildung

Bei zusammenfassender Betrachtung der Veränderung des Dispersitätsgrades der untersuchten Corticosteroide während der Lagerung ist festzustellen, daß sich eine erhöhte Lagertemperatur besonders beschleunigend auf das Kristallwachstum in O/W-Cremes auswirkt. So nahm die durchschnittliche Partikelgröße beider Steroide innerhalb eines Jahres bei Aufbewahrung bei 35°C um das drei- bis sechsfache zu. Die Ursache hierfür ist die erhöhte Löslichkeit der Wirkstoffe in der Grundlage bei Temperaturzunahme.

Wesentlichen Einfluß auf die Dispersität von Corticosteroiden in Zweiphasensystemen besitzt weiterhin der pH-Wert der Wasserphase. Sowohl bei Hydrocortison als auch bei Betamethason-17-valerat war das stärkste Partikelwachstum im alkalischen pH-Bereich zu verzeichnen. Ebenso wie unter Einfluß hoher Lagertemperaturen war auch bei erhöhtem pH-Wert eine rasche Zunahme der Kristallgröße mit einem verstärkten Stabilitätsverlust der Wirkstoffe verbunden.

Bei beiden Steroiden ließ sich ein Zusammenhang zwischen der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase und der Veränderung der Kristallgröße feststellen. So war das Partikelwachstum in glycerinfreien Zubereitungen erhöht. Neben einem direkten Einfluß des DK-Wertes auf die Löslichkeit bzw. den Verteilungskoeffizienten der Corticosteroide zwischen lipophiler und hydrophiler Phase kann hierfür auch die verminderte Viskosität der glycerinfreien Zubereitungen verantwortlich sein, da die Wachstumsgeschwindigkeit suspendierter Arzneistoffe in halbfesten Zubereitungen im allgemeinen mit abnehmender Viskosität ansteigt (130).

In weiteren Untersuchungen bliebe abzuklären, inwieweit das Partikelwachstum von Corticosteroiden in Emulsionsgrundlagen verhindert werden kann. In diesem Zusammenhang wäre zu überprüfen, ob sich der Einsatz geeigneter Kolloide als Kristallisationsverzögerer heranziehen läßt. Über wirksame Einschränkungen des Partikelwachstums durch Zugabe von Methylcellulose oder Hydroxypropylcellulose wurde in der Literatur berichtet (78,85).

4.2 Beeinflussung des pH-Wertes der Wasserphase

Wie die Untersuchungsergebnisse an hergestellten Corticosteroidcremes bestätigt haben, beeinflußt der pH-Wert der Wasserphase die Stabilität von Corticosteroiden in O/W-Cremes.

Um abzuklären, inwieweit der pH-Wert in den einzelnen Rezepturen in Abhängigkeit der Lagertemperatur, der Lagerzeit oder anderer Einflußfaktoren einer Veränderung unterliegt, wurden die pH-Werte aller Cremes in dreimonatigen Abständen überprüft.

Die selbstangefertigten Hydrocortisonzubereitungen zeigten, im Gegensatz zu dem untersuchten Handelspräparat, im pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,0 keine signifikante Veränderung der pH-Werte ihrer Wasserphasen.

Eine Ausnahme bildete dabei die Rezeptur H 6, bei der unter Schwermetallkatalyse nach Streßbelastung von 35°C der pH-Wert während einjähriger Lagerung von 4,5 auf 4,1 absank. In der Creme, deren Wasserphase auf pH 8,0 gepuffert worden war (Rezeptur H 28), fiel der pH-Wert innerhalb eines Jahres bei Aufbewahrung bei 20° und 25°C um 0,3, bei 35°C um 0,9 pH-Einheiten ab.

Die Rezepturen mit Betamethason-17-valerat erlitten im pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,0 ebenfalls keine signifikanten pH-Wertänderungen während zwölfmonatiger Lagerung.

Dagegen war in der Zubereitung von pH 8,0 (Rezeptur B 29) auch bei diesem Wirkstoff mit steigender Lagertemperatur ein Absinken des pH-Wertes festzustellen. Bei Aufbewahrung bei 20°C wurde nach einem Jahr ein pH-Wert von 7,6, bei 25°C von 7,3 und bei 35°C von 7,1 ermittelt.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Veränderung des pH-Wertes der Wasserphasen in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit bei untersuchten Handelspräparaten stärker ausgeprägt war als in den hier vorliegenden Zubereitungen. Es ist deshalb anzunehmen, daß die meisten untersuchten Fertigarzneimittel ungepufferte Wasserphasen enthalten.

4.3 Beeinflussung der Konsistenz

Zur Untersuchung der Konsistenz selbsthergestellter Corticoidcremes und ihrer Veränderung während der Lagerung wurden an ausgewählten Rezepturen penetrometrische Messungen mit dem Mikrokonus nach Klein vorgenommen.

Die Konsistenzbestimmungen erfolgten über einen Lagerzeitraum von einem Jahr an der wirkstofffreien Grundlage sowie an wirkstoffhaltigen Cremes von pH 4,5 und 6,0 (Rezepturen H 1, H 9, B 1, B 15). Die glycerinfreien Rezepturen mit erhöhtem Wassergehalt (Rezepturen H 23, B 14) wurden während einer sechsmonatigen Lagerzeit untersucht.

Wie aus Tabelle 22 hervorgeht, ließ sich bei allen untersuchten Zubereitungen eine temperaturabhängige Nachhärtung feststellen. Dabei war die Konsistenzzunahme in den ersten drei Monaten nach der Herstellung am stärksten ausgeprägt.

Die wirkstoffhaltigen Rezepturen von pH 6,0 (Rezepturen H 9, B 15) zeigten etwa die gleiche Konsistenz und ein ähnliches Nachhärtungsverhalten wie die reine Grundlage. Ein signifikanter Einfluß der Corticosteroide auf die Viskosität des Vehikels war nicht feststellbar.

Die Zubereitungen von pH 4,5 waren nach der Herstellung weicher und erfuhren eine geringere Konsistenzzunahme während der Lagerung. Die Ursache hierfür liegt in der unterschiedlichen Herstellungsart der Cremes. Während die mit Phosphatpuffer auf pH 6,0 eingestellten Rezepturen, ebenso wie die wirkstofffreie Grundlage, bei 70°C hergestellt wurden, erfolgte die Einarbeitung der Wasserphase bei acetatpufferhaltigen Cremes aufgrund der Flüchtigkeit der Essigsäure nach Abkühlung der Absorptionsgrundlage bei Raumtemperatur. Die Rezepturen mit erhöhtem Wassergehalt besaßen erwartungsgemäß die geringste Konsistenz. Auch hier ergab sich ein Unterschied in den Penetrationswerten zwischen der kaltemulgierten Zubereitung von pH 4,5 (Rezeptur B 14) und der in der Hitze hergestellten Creme von pH 6,0 (Rezeptur H 23).

Charge	E i n s i n k t i e f e [0.1 mm]									
	Ausgangs- wert	Lagerzeit 3 Monate			Lagerzeit 6 Monate			Lagerzeit 12 Monate		
		20°C	25°C	35°C	20°C	25°C	35°C	20°C	25°C	35°C
G *	108	104	104	101	103	102	98	103	102	93
H 1	118	114	115	112	113	113	109	114	112	107
H 9	106	102	102	99	102	103	97	101	101	90
H 23	182	175	173	168	175	172	164	-	-	-
B 1	120	116	116	113	114	114	109	114	114	109
B 14	191	187	188	184	186	186	180	-	-	-
B 15	107	104	102	97	101	100	95	101	99	91

Tab. 22 Einfluß von Lagertemperatur und Lagerzeit auf die Konsistenz corticosteroidhaltiger O/W-Cremes

Meßtemperatur: 20°C ± 0,5°C

Mittelwerte aus je 4 Messungen

* Wirkstofffreie Grundlage

4.4 Beeinflussung rheologischer Eigenschaften

In die Untersuchungen zur Abklärung möglicher Veränderungen rheologischer Eigenschaften in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur wurden die reine Cremegrundlage sowie vier wirkstoffhaltige Rezepturen einbezogen.

Die Aufnahme von Fließkurven erfolgte mit dem Rotationsviskosimeter.

Alle untersuchten Zubereitungen zeigten plastisches Fließverhalten und einen ausgeprägten Thixotropieeffekt.

In Tabelle 23 sind die ermittelten Quasiviskositätswerte η_Q bei der höchsten untersuchten Drehzahl ($n = 256$) nach Herstellung der Cremes sowie nach einjähriger Lagerung in Abhängigkeit von der Lagertemperatur angegeben. Die Ergebnisse zeigen in Übereinstimmung mit den penetrometrischen Meßwerten eine Erhöhung der Quasiviskosität mit zunehmender Lagerzeit und steigender Lagertemperatur.

Charge	Quasiviskosität η_Q [mPa·s]			
	Ausgangswert	Lagerzeit 1 Jahr		
		20°C	25°C	35°C
G*	1482,8	1574,1	1609,1	1714,0
H 1	1375,3	1408,0	1451,7	1521,6
H 9	1512,8	1591,6	1617,8	1740,2
B 1	1335,5	1390,5	1381,7	1486,6
B 15	1492,6	1644,1	1635,3	1731,5

Tab. 23 Einfluß der Lagertemperatur auf die Quasiviskosität corticosteroidhaltiger O/W-Cremes während einjähriger Lagerung

Schergefälle D: 199,7 [s⁻¹] (n = 256)

Meßtemperatur : 20°C ± 0,1°C

* Wirkstofffreie Grundlage

Die Fließkurven der wirkstoffhaltigen Rezepturen von pH 6,0 stimmten weitgehend mit denjenigen der reinen Grundlage überein. Bei den Cremes von pH 4,5 ergaben sich geringere Fließgrenzen und Quasiviskositätswerte. Dies ist wiederum auf die Kaltemulgierung der acetatpufferhaltigen Zubereitungen zurückzuführen.

Wie Abbildung 40 am Beispiel der wirkstofffreien Grundlage zeigt, war bei allen untersuchten Cremes mit steigenden Quasiviskositätswerten auch eine Zunahme des Thixotropieeffektes in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur festzustellen. Bei den Zubereitungen von pH 4,5 war die thixotrope Nachhärtung weniger ausgeprägt.

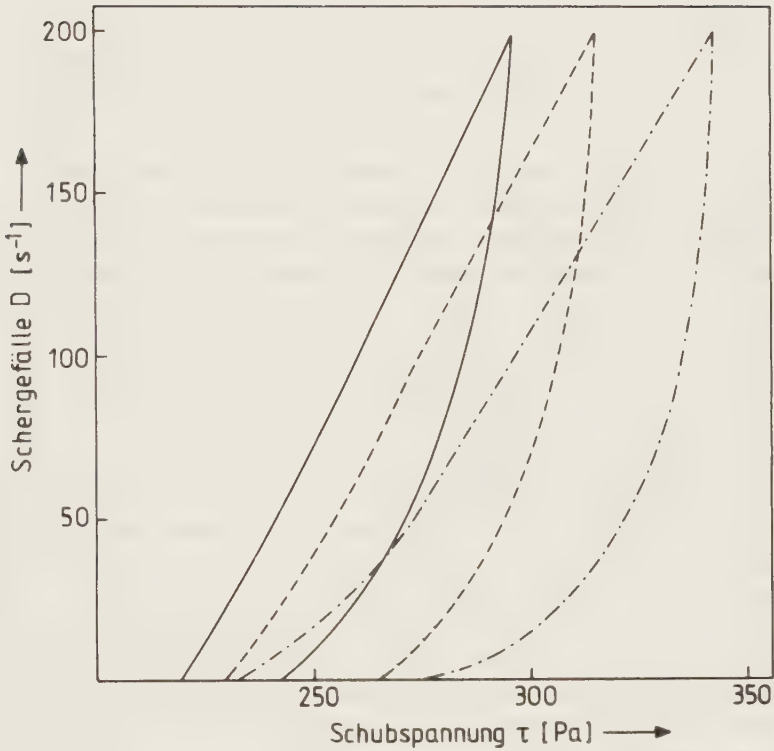


Abb. 40 Veränderung der Fließeigenschaften in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit am Beispiel der wirkstofffreien Grundlage

- nach der Herstellung
- Lagerzeit 1 Jahr bei 20°C
- .-.- Lagerzeit 1 Jahr bei 35°C

5. Schlußfolgerung aus den Befunden für die Entwicklung und Herstellung von Corticosteroidcremes

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben gezeigt, welche Parameter bei der Formulierung corticosteroidhaltiger O/W-Emulsionen Einfluß auf die Zersetzungsgeschwindigkeit der Wirkstoffe bzw. die Lagerfähigkeit dieser Arzneiformen nehmen.

Um einen raschen Abbau von Corticosteroiden in O/W-Cremes zu verhindern, müssen bei der Entwicklung und Herstellung der Zubereitung neben der Vermeidung von UV-Einfluß und Temperaturbelastung insbesondere folgende Faktoren beachtet werden:

- Vermeidung von Verunreinigungen mit Schwermetallen
- Vermeidung von Verunreinigungen mit Peroxiden
- Vermeidung der Einarbeitung von Luftsauerstoff
- Einstellung der Wasserphase auf einen geeigneten pH-Wert; Pufferung der Wasserphase
- Auswahl einer geeigneten Dielektrizitätskonstante der Wasserphase
- Auswahl geeigneter Stabilisatoren

Da Schwermetallionen bereits in sehr geringer Konzentration oxidative Zersetzungsreaktionen katalysieren können, sollten bei der Herstellung von Corticoidcremes besonders reine Grund- und Hilfsstoffe eingesetzt werden. Oftmals sind Schwermetallverunreinigungen in Puffersubstanzen minderer Qualität enthalten (28). Aber auch durch metallene Rührkessel ohne Innenschutz oder bei Verwendung von Kupferapparaturen zur Destillation des Wassers (127) können Schwermetallionen in die Zubereitungen gelangen.

Peroxidische Verunreinigungen entstehen z.B. durch Autoxidationsvorgänge überlagerter, lipophiler Grundstoffe.

Wie die eigenen Ergebnisse gezeigt haben, können Peroxide auch bei Einfluß von UV-Licht auf nichtionische O/W-Emulgatoren entstehen.

Ein wesentlicher Gesichtspunkt für die Formulierung lagerstabiler Corticosteroidcremes ist daher eine lichtgeschützte

Aufbewahrung autoxidationsgefährdeter Grund- und Hilfsstoffe. Weiterhin kann auch die Art des verwendeten Emulgators, bedingt durch die unterschiedliche Löslichkeit von Sauerstoff in verschiedenen Emulgatorlösungen, für den Grad autoxidativer Veränderungen von O/W-Systemen von Bedeutung sein (128).

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen lassen sich oxidative Zersetzungsreaktionen der Corticosteroide durch Ausschluß von Luftsauerstoff während des Herstellungsprozesses deutlich einschränken. Dies setzt die Möglichkeit der Herstellung in einer evakuierbaren Prozeßanlage sowie eine gründliche Inertbegasung der Wasserphase voraus. Neben einem besseren Schutz sauerstoffempfindlicher Wirk- und Hilfsstoffe kann die Herstellung einer O/W-Creme unter Vakuum auch die Dosierungsgenauigkeit und die physikalische Stabilität der Zubereitung verbessern (129).

Bei der Entwicklung einer corticosteroidhaltigen O/W-Creme kommt dem pH-Wert der Wasserphase besondere Bedeutung zu. Da Oxidationsreaktionen beim Abbau der Steroide eine wesentliche Rolle spielen und diese in der Regel basenkatalysiert sind, sollte der pH-Wert keinesfalls im Alkalischen liegen. Steroidester besitzen im allgemeinen ein pH-Optimum mit geringster Hydrolysegeschwindigkeit.

Das relative pH-Optimum im schwach sauren Bereich, in dem O/W-Emulsionen gut hautverträglich sind, muß für jedes Steroid durch Stabilitätsversuche ermittelt werden.

In jedem Fall sollte eine Pufferung der Wasserphase vorgenommen werden. Wie die Untersuchungen an selbsthergestellten Corticoidcremes gezeigt haben, ergibt sich bei Pufferung der Wasserphase im schwach sauren Bereich keine Veränderung des pH-Wertes während der Lagerung. In den untersuchten Handelspräparaten war dagegen in den meisten Fällen mit zunehmender Wirkstoffzersetzung ein deutliches Absinken des pH-Wertes zu verzeichnen. Die Pufferkonzentrationen sollten ebenso wie die Ionenstärke möglichst niedrig gehalten werden. Neben der Verunreinigung mit Schwermetallspuren können durch hohe Pufferkonzentrationen hydrolytische Zersetzungsreaktionen katalysiert werden (110).

Zu prüfen wäre, ob im Falle von hydrocortisonacetathaltigen Cremes durch Pufferung der Wasserphase unter Verwendung von Essigsäure das Gleichgewicht der Steroidzersetzung auf der Seite der Ausgangsstoffe gehalten werden kann.

Der nachgewiesene Einfluß der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase auf die Wirkstoffstabilität von Hydrocortison und Betamethason-17-valerat sollte bei der Entwicklung und Herstellung von Corticosteroidcremes Berücksichtigung finden. Dabei wäre abzuklären, ob ein Zusatz von Glycerin oder Propylenglykol zur Wasserphase, welcher die Dielektrizitätskonstante herabsetzt, positiven Einfluß auf die Steroidstabilität zeigt. So können Oxidationsreaktionen möglicherweise durch die verminderte Sauerstofflöslichkeit in Medien geringerer Polarität eingeschränkt werden (35); Esterhydrolysen verlaufen in Medien niedrigerer Polarität langsamer, da ihre Reaktionsprodukte, Alkohol und Wasser, polarer sind.

Die Verbesserung der Haltbarkeit von Corticosteroidcremes setzt die Verwendung geeigneter Stabilisatoren voraus. So haben die Untersuchungen gezeigt, daß sich durch entsprechende Vorsichtsmaßnahmen größere Verunreinigungen mit Schwermetallen zwar vermeiden lassen, die Anwesenheit geringer Spuren jedoch nicht auszuschließen ist. Ein Komplexbildnerzusatz ist daher in jedem Fall sinnvoll.

Besonders bei der Verarbeitung von Steroidalkoholen, welche vor allem oxidationsgefährdet sind, wirkt sich die Zugabe eines Redoxstabilisators positiv auf die Wirkstoffstabilität aus. Der Einsatz eines Antioxidans empfiehlt sich besonders in solchen Zubereitungen, deren lipophile Phase autoxidationsgefährdete Bestandteile enthält.

Die geeignete Stabilisatorkombination muß bei der Entwicklung einer Corticosteroidcreme für jeden Wirkstoff im einzelnen abgeklärt werden.

Setzt man im Rahmen der vorliegenden Untersuchungsergebnisse den $t_{90\%}$ -Wert der unstabilisierten Hydrocortisoncreme von pH 6,0 bei einer Lagertemperatur von 20°C gleich 1, so erhält man durch Zusatz einer geeigneten Stabilisatorkombination einen Verlängerungsfaktor der Haltbarkeit von 4,3. Bei

Betamethason-17-valerat ergibt sich für die vergleichbare Rezeptur bei pH 4,5 ein Verlängerungsfaktor von 3,0.

Grundsätzlich ist die Stabilisierung eines Steroidesters in O/W-Emulsionen schwieriger als die eines Steroidalkohols. Da bei der Zersetzung der Ester zunächst Hydrolysereaktionen ablaufen, sind der Beeinflussung der Stabilität dieser Arzneistoffe in wasserhaltigen Zubereitungen bei eingeschränkter Variationsmöglichkeit des pH-Wertes Grenzen gesetzt.

Neben der Berücksichtigung von Einflußfaktoren auf die chemische Stabilität der Corticosteroide müssen mögliche Veränderungen der Partikelgrößen bei der Formulierung einer Corticosteroidcreme in Betracht gezogen werden.

Um ein Kristallwachstum in der Zubereitung einzuschränken, sollte von möglichst einheitlichen Teilchengrößen ausgegangen werden.

Wie die Untersuchungen an Hydrocortison und Betamethason-17-valerat gezeigt haben, kann das Partikelwachstum der Steroide durch hohe Lagertemperaturen, eine hohe Dielektrizitätskonstante der Wasserphase sowie durch alkalischen pH-Wert besonders beschleunigt werden.

Da zahlreiche Corticosteroide polymorphe Kristallformen besitzen (75, 77-83), ist es bei der Entwicklung einer Creme mit einem solchen Wirkstoff vorteilhaft, die am wenigsten lösliche Form einzusetzen. Bei Verwendung einer metastabilen Kristallform muß während der Lagerung verstärkt mit Partikelwachstum gerechnet werden (81).

In diesem Zusammenhang wäre außerdem zu prüfen, ob sich durch Zusatz geeigneter Kolloide zur Kristallisationsverzögerung eine Verminderung des Partikelwachstums der untersuchten Corticosteroide in O/W-Cremes erreichen läßt. Über positive Ergebnisse in diesem Sinne wurde bei der Verarbeitung anderer Steroide durch Zugabe von Methylcellulose und Hydroxypropylcellulose in der Literatur berichtet (78,85).

Wie die vorliegenden Untersuchungsbefunde zeigen, kann bei erfolgreicher Entwicklung und Herstellung corticosteroidhaltiger O/W-Zubereitungen in der Regel auf die Vorschrift einer Schutzlagerung "Nicht über 20°C lagern" verzichtet werden.

Da jedoch mit Unterschieden der einzelnen Corticosteroide in der Temperaturabhängigkeit ihrer Zersetzung zwischen 20° und 25°C zu rechnen ist, kann eine solche Maßnahme im Einzelfall notwendig sein.

Grundsätzlich dürfen corticosteroidhaltige O/W-Emulsionen auch kurzzeitig nicht bei Temperaturen über 25°C aufbewahrt werden, da in diesem Fall sowohl mit einer beschleunigten Wirkstoffzersetzung als auch mit einem verstärkten Partikelwachstum zu rechnen ist.

III. Instabilität und Stabilisierung von Dermatika mit einer Wirkstoffkombination aus Corticosteroid und Antihistaminikum

H₁-Antihistaminika sind Stoffe, die durch kompetitive Hemmung der H₁-Histaminrezeptoren die Wirkungen des Histamins an der glatten Muskulatur und den Blutgefäßen unterdrücken (131-134).

Topische Präparate mit Antihistaminika werden seit mehr als 25 Jahren zur Pharmakotherapie pruriginöser Dermatosen, von Urtikaria, Insektenstichen und Sonnenbrand eingesetzt (135, 136). Dabei ist bei schweren Formen juckender Hauterkrankungen allergischen Ursprungs oftmals die kutane Anwendung einer Kombination aus Corticosteroid und Antihistaminikum indiziert.

Wie in den vorangegangenen Kapiteln der vorliegenden Arbeit dargelegt, sind bei der Formulierung corticosteroidhaltiger Dermatika zahlreiche Einflußfaktoren zu berücksichtigen, um eine chemische und physikalische Lagerstabilität dieser Arzneimittel zu gewährleisten.

Auch die Verarbeitung von Antihistaminika in Arzneiformen zur topischen Anwendung kann mit Stabilitätsproblemen verbunden sein. So stellten RUB-SAIDAC und Mitarbeiter (137, 138) sehr rasche Stabilitätsverluste der Wirkstoffe Promethazinhydrochlorid und Pheniramin-p-aminosalicylat bei Verarbeitung in verschiedene Salbengrundlagen fest. Trotz zahlreicher Stabilisierungsmaßnahmen in wasserhaltigen Systemen konnte der Arbeitskreis nur in einer lipophilen, wasserfreien Grundlage eine Haltbarkeit der Antihistaminika von sechs Monaten erzielen.

Im Hinblick auf die Entwicklung lagerstabiler Dermatika mit einer Wirkstoffkombination aus Corticosteroid und Antihistaminikum galt ein weiteres Teilgebiet der vorliegenden Arbeit der Stabilitätsuntersuchung einer Kombination der Arzneistoffe Betamethason und Dimetindenmaleat.

Das Hauptziel der Untersuchungen bestand wiederum in der Formulierung einer stabilen O/W-Creme mit der Kombination beider

Stoffe. Darüber hinaus sollten im Hinblick auf eine möglichst vielseitige dermatologische Anwendbarkeit dieser Wirkstoffkombination auch eine stabile W/O-Emulsion sowie ein Hydrogel entwickelt werden.

1. Chemische Stabilität und Abbaureaktionen von Dimetindenmaleat

BUCHMANN und KESSELRING (139-141) untersuchten die Stabilität des Antihistaminikums Dimetindenmaleat (Abbildung 41) in wäßriger Lösung, gelöst in Chloroform sowie als pulverisierte Festsubstanz in einer Mischung mit mikrokristalliner Zellulose.

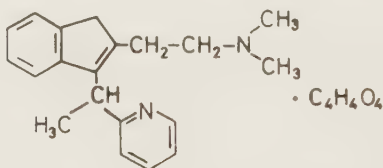


Abb. 41 Strukturformel des Dimetindenmaleats

Die Autoren ermittelten eine Abhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit der Substanz von Temperatur, UV-Licht, Sauerstoff und Feuchtigkeit. In wäßriger Lösung zeigte der pH-Wert Einfluß auf die qualitative Zusammensetzung der Reaktionsprodukte. Eine quantitative Zunahme der Abbaurrate ergab sich bei alkalischem pH-Wert.

Insgesamt ließen sich neun Zersetzungsprodukte des Dimetindens dünn-schichtchromatographisch nachweisen. Von den fünf Hauptabbauprodukten wurden Strukturaufklärungen vorgenommen (140). Diese führten bei zwei Substanzen zur Identifizierung; für die anderen drei Stoffe wurden wahrscheinliche Strukturformeln ermittelt.

Die Entstehung der Zersetzungsprodukte in Abhängigkeit verschiedener Einflußfaktoren ist in Abbildung 42 zusammengefaßt.

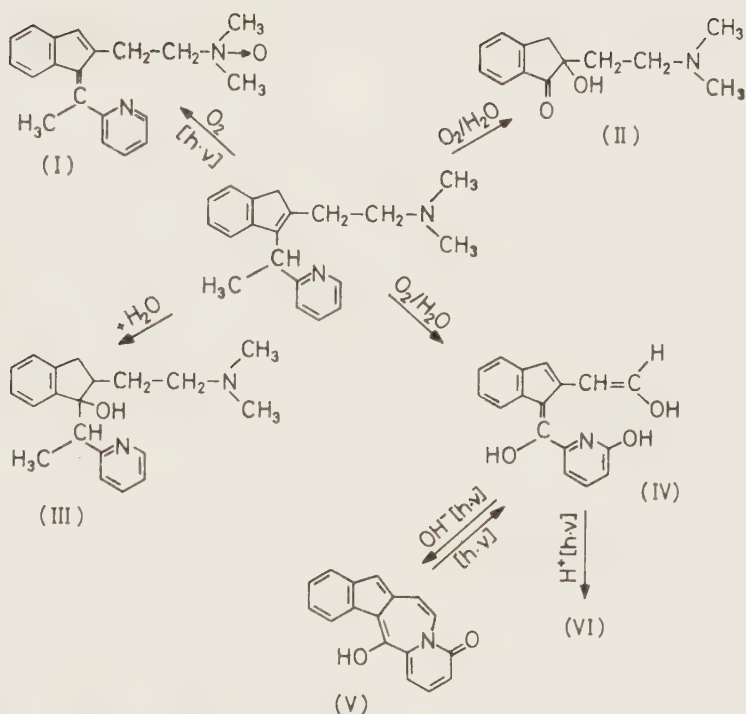


Abb. 42 Dimetinden und seine Abbauprodukte (139)

- (I) [(Dimethylamino-2 ethyl N-oxid)-2 indenyl-iden-1]-1 ethyl}-2 pyridin
- (II) (Dimethylamino-2 ethyl)-2 hydroxy-2 indanon-1
- (III) (Dimethylamino-2 ethyl)-2[(pyridyl-2)-1 ethyl]-1 indanol-1
- (IV) {[Hydroxy(hydroxy-6 pyridyl-2)methylen]-1 indenyl-2}-2 ethenol
- (V) Hydroxy-13 4H-indeno[1,2-d]pyrido[1,2-a]azepinon-4
- (VI) nicht identifiziertes Zersetzungsprodukt

Abbauprodukt (I) ist ein Oxidationsprodukt des Dimetindens und entsteht sowohl aus der Festsubstanz als auch in Lösung in Anwesenheit von Sauerstoff. Die Zersetzungsreaktion wird durch UV-Licht katalysiert.

Abbauprodukt (II) wird nur bei gleichzeitiger Gegenwart von Luftsauerstoff und Wasser gebildet.

Abbauprodukt (III) läßt sich in geringer Konzentration selbst in frisch hergestelltem Dimetinden nachweisen, da es schon bei der Synthese des Antihistaminikums unter Addition eines Wassermoleküls entsteht. In Gegenwart von Wasser nimmt die gebildete Menge dieses Zersetzungsproduktes rasch zu.

Abbauprodukt (IV) kann wiederum nur bei Anwesenheit von Luftsauerstoff und Wasser entstehen. Im neutralen und alkalischen Milieu geht diese Substanz unter UV-Einfluß in einer Folge-reaktion in Abbauprodukt (V) über. Diese Reaktion ist reversibel. In saurer Lösung bildet sich dagegen aus (IV) das nicht näher identifizierte Abbauprodukt (VI). Die Entstehung der Substanz (VI) ist stark UV-katalysiert.

Weitere drei Abbauprodukte, deren Strukturen nicht aufgeklärt wurden, werden nur bei extremen Lagerbedingungen, wie Temperaturen über 80°C oder stark alkalischem pH-Wert, gebildet.

2. Entwicklung eines spezifischen hochleistungsflüssigkeitschromatographischen Verfahrens zur Bestimmung von Betamethason und Dimetindenmaleat

Zur qualitativen und quantitativen Analyse von Corticosteroiden haben sich verschiedene hochleistungsflüssigkeitschromatographische Verfahren bewährt. Die Bestimmung und Trennung dieser wenig polaren Verbindungen gelingt sowohl auf Kieselgelsäulen mit apolaren Eluenten (142-149) als auch unter reversed-phase-Bedingungen mit polarer mobiler Phase (149-164). Die BP 80 läßt ebenso wie die USP XX einige Corticosteroide mittels HPLC bestimmen.

Zur Analyse tertiärer Amine aus der Gruppe der Antihistaminika sind in der Literatur überwiegend dünn-schichtchromatographische Methoden erwähnt (137,140,165). Der DAC 1979 gibt zur Bestimmung von Diphenhydraminhydrochlorid neben einer titrimetrischen Methode ebenfalls eine DC-Analytik an.

HPLC-Verfahren zur Analyse von Antihistaminika sind bisher wenig beschrieben worden (166).

Die Chromatographie der zweisäurigen Base Dimetinden über polare Kieselgelsäulen mit apolaren Eluenten ist aufgrund der amphiphilen Eigenschaften des Moleküls mit Schwierigkeiten verbunden.

Da aber auch apolare reversed-phase-Materialien immer einen gewissen Anteil nichtsilanierter OH-Gruppen enthalten, besteht bei der Chromatographie amphiphiler Amine auf reversed-phase-Säulen die Gefahr eines Doppelmechanismus, d.h. die Amingruppen werden teilweise an freie Silanolgruppen gebunden und unvollständig von der Säule eluiert. Dies führt im Chromatogramm zur Bildung eines asymmetrischen Peaks; es entsteht ein sog. "Tailing".

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde ein quantitatives HPLC-Verfahren entwickelt, welches die gleichzeitige Bestimmung von Dimetindenmaleat neben Betamethason ermöglicht. Die Trennung der Substanzen gelang bei reversed-phase-Bedingungen unter Verwendung einer stationären Phase mittlerer Polarität (Radial-Pak CN, 10 μ) und einer mobilen Phase aus Acetonitril, Wasser, D4-Reagens und Kaliumdihydrogenphosphat.

Das D4-Reagens enthält Dibutylaminphosphat in gepufferter Lösung und erfüllt zwei Aufgaben in der vorliegenden HPLC-Analytik:

- Dibutylamin wird aus der mobilen Phase an freie Silanolgruppen der stationären Phase angelagert und verhindert damit einen zweiten Adsorptionsmechanismus für das Antihistaminikum.
- Der Wasseranteil der mobilen Phase wird durch das Reagens auf pH 3,0 gepuffert. Da der Pyridinstickstoff der Dimetindenbase einen pK_1 -Wert von 4,4 und die tertiäre Aminogruppe einen pK_2 -Wert von 9,0 besitzt (167), liegt das Antihistaminikum im Eluenten überwiegend zweifach protoniert vor. Die Maleinsäure ist unter diesen Bedingungen undissoziiert und wird von der stationären Phase nicht reteniert.

Die Zugabe von Kaliumdihydrogenphosphat zur mobilen Phase bewirkt eine zusätzliche Abdeckung freier Silanolgruppen des Säulenmaterials.

Abbildung 43 zeigt ein HPLC-Chromatogramm der Bestimmung von Betamethason neben Dimetindenmaleat (als Dimetindenbase). Es wurde eine Trennung der Substanzen bis zur Basislinie erreicht. Bei relativ kurzer Analysenzeit von 3,5 min besitzt das Chromatogramm eine hohe Selektivität und gute Auflösung.

Die einzelnen chromatographischen Parameter sind im Anschluß an Abbildung 43 wiedergegeben.

Die Reproduzierbarkeit des Verfahrens wurde durch zehnmäßige Injektion von Standardlösungen überprüft. Es ergab sich dabei für Betamethason eine relative Standardabweichung von 0,47%, für Dimetinden von 0,59%.

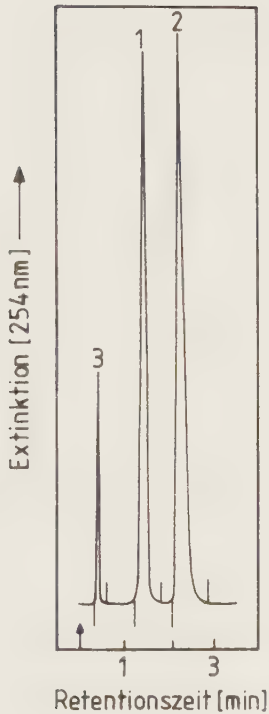


Abb. 43

HPLC-Bestimmung von Beta-methason und Dimetindenmaleat

- 1 Betamethason
- 2 Dimetinden
- 3 Maleinsäure

Chromatographische Parameter:

Stationäre Phase: Radial-Pak CN, 10 μ , ID 5 mm

Mobile Phase: Acetonitril 350 T, Wasser 650 T, D4-Reagens, 13 mmol KH_2PO_4

Durchfluß: 3 ml/min

Druck: 700 - 800 psi

Meßbereich: 0,4 - 0,8 μg

Kapazitätsfaktoren: Betamethason $k' = 2,00$; Dimetinden $k' = 3,56$

Relative Retention: $\alpha = 1,78$

Auflösung: $R = 1,53$

Da in den untersuchten Dermatika neben den Wirkstoffen Betamethason und Dimetindenmaleat zusätzlich Konservierungsmittel enthalten waren, welche unter den gleichen Bedingungen chromatographiert werden, mußte die vorliegende HPLC-Methode weiter modifiziert werden.

Wie Abbildung 44 zeigt, gelang auch bei Anwesenheit zweier phenolischer Konservierungsmittel eine vollständige Trennung der vier Substanzen bis zur Basislinie. Unter diesen Bedingungen erhöht sich die Analysenzeit auf 5,5 min. Bei relativen Retentionen α zwischen 1,31 und 1,51 und Auflösungen R zwischen 1,54 und 1,59 ergibt sich ein gut optimiertes Trennverfahren.

Die chromatographischen Parameter zur Bestimmung der Wirkstoffe in Gegenwart von Konservierungsmitteln sind im Anschluß an Abbildung 44 wiedergegeben.

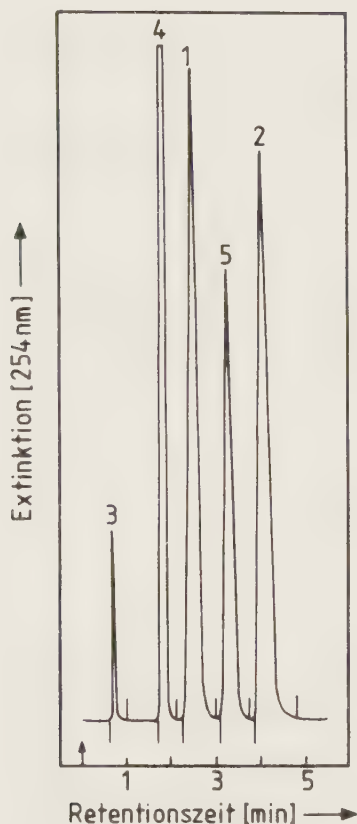


Abb. 44

HPLC-Bestimmung von Beta-methason und Dimetinden-maleat neben phenolischen Konservierungsmitteln

- 1 Betamethason
- 2 Dimetinden
- 3 Maleinsäure
- 4 p-Hydroxybenzoesäure-methylester (Nipagin)
- 5 p-Hydroxybenzoesäure-propylester (Nipasol)

Chromatographische Parameter:

Stationäre Phase: Radial-Pak CN, 10 μ , ID 5 mm

Mobile Phase: Acetonitril 300 T, Wasser 650 T, D4-Reagens, 14 mmol KH_2PO_4

Durchfluß: 2 ml/min

Druck: 500 - 700 psi

Detektion: UV 254 nm/0,05 a.u.f.s.

Meßbereich: 0,4 - 0,8 μg

Kapazitätsfaktoren: Betamethason $k' = 2,57$; Dimetinden $k' = 4,79$; Nipagin $k' = 1,64$; Nipasol $k' = 3,67$

Relative Retentionen: $\alpha_{1/4} = 1,56$; $\alpha_{5/1} = 1,43$; $\alpha_{2/5} = 1,31$

Auflösungen: $R_{1/4} = 1,59$; $R_{5/1} = 1,59$; $R_{2/5} = 1,54$

3. Einflußfaktoren auf die Stabilität der Wirkstoffe
in Propylenglykol/Wasser-Mischungen

Untersuchungen zur Stabilität einer Wirkstoffkombination aus Corticosteroid und Antihistaminikum sind bisher nicht bekannt geworden.

Im Hinblick auf die Entwicklung stabiler Dermatika mit den Arzneistoffen Betamethason und Dimetindenmaleat wurde daher in Vorversuchen die Stabilität dieser Wirkstoffkombination in Propylenglykol/Wasser-Mischungen in Abhängigkeit verschiedener Einflußfaktoren abgeklärt.

Folgende Ausgangsrezeptur wurde zugrunde gelegt:

Betamethason	0,1
Dimetindenmaleat	0,1
Natriumlaurylsulfat	0,1
Propylenglykol	10,0
Aqua conservata	
DAC 79	ad 100,0

Ebenso wie in den im Anschluß an diese Untersuchungen formulierten halbfesten Dermatika lag Dimetindenmaleat in der Propylenglykol/Wasser-Mischung gelöst, Betamethason dagegen suspendiert vor.

Der Zusatz des Natriumlaurylsulfats erfolgte zur besseren Benetzung des Steroids, um bei gründlicher Aufschüttelung eine homogene Verteilung und quantitative Probenentnahme zu gewährleisten.

Durch Modifizierung der Ausgangsrezeptur wurden die Einflüsse von pH-Wert, Sauerstoff sowie Verunreinigungen mit Schwermetallen und Peroxiden in Abhängigkeit von der Lagertemperatur untersucht.

Um vergleichend abklären zu können, ob sich die beiden Wirkstoffe in ihrer Zersetzungsgeschwindigkeit beeinflussen, wurden einige Rezepturen unter Verwendung der Einzelsubstanzen hergestellt. In einem weiteren Rezepturansatz wurden äquimolare Mengen der Arzneistoffe verarbeitet.

Ferner wurde untersucht, inwieweit eine methanolische Lösung beider Substanzen ihre Abbauraten verändert.

Um den Bedingungen in tubenverpackten Dermatika zu entspre-

chen, wurde der Einfluß von UV-Licht während der gesamten Lagerzeit ausgeschlossen.

Die Abwandlungen der Grundrezeptur sind im einzelnen der Tabelle 24 zu entnehmen.

Alle Untersuchungen erfolgten an der ungepufferten Propylen-glykol/Wasser-Mischung (pH 6,5) sowie an gepufferten Rezep-turen von pH 5,0 und 5,5.

Die quantitative Bestimmung der Wirkstoffe nach Herstellung der Mischungen sowie nach vier-, acht- und zwölfwöchiger Lagerung erfolgte mittels der unter 2. angegebenen HPLC-Methode.

Charge	pH-Wert	Variationen der Ausgangsrezeptur
V 1a V 1b V 1c	5,0 5,5 ungepuffert	keine
V 2a V 2b V 2c	5,0 5,5 ungepuffert	Verwendung von Betamethason als Einzelwirkstoff
V 3a V 3b V 3c	5,0 5,5 ungepuffert	Verwendung von Dimetindenmaleat als Einzelwirkstoff
V 4a V 4b V 4c	5,0 5,5 ungepuffert	Einsatz äquimolarer Wirkstoff-konzentrationen (je 2 mmol)
V 5a V 5b V 5c	5,0 5,5 ungepuffert	Zusatz Fe(II)sulfat 10 mmol
V 6a V 6b V 6c	5,0 5,5 ungepuffert	Zusatz Benzoylperoxid 10 mmol
V 7a V 7b V 7c	5,0 5,5 ungepuffert	Mischung 30 min mit Sauerstoff begast
V 8	(5,0)*	Methanolische Lösung der Wirkstoffe (Austausch von 20 g Wasser gegen 20 g Methanol)

Tab. 24 Abwandlungen der Grundrezeptur bei der Herstellung von Propylenglykol/Wasser-Mischungen mit Betamethason und Dimetindenmaleat

*Wasser vor Zusatz des Methanols auf pH 5,0 gepuffert

3.1 Stabilität der Einzelwirkstoffe und der Wirkstoffkombination in Abhängigkeit von Lagertemperatur und pH-Wert

Die wirkstoffhaltigen Propylenglykol/Wasser-Mischungen wurden über einen Lagerzeitraum von zwölf Wochen bei 20°, 40° und 60°C gelagert.

Beide Arzneistoffe zeigten als Einzelsubstanzen und in Kombination eine deutliche Abhängigkeit ihrer Zersetzungsrates von Lagertemperatur und Lagerzeit.

Wie aus Abbildung 45 ersichtlich ist, besaß Dimetindenmaleat die größere Temperaturanfälligkeit.

Abbildung 45 zeigt weiterhin, daß beide Wirkstoffe als Einzelsubstanzen langsamer abgebaut wurden als in ihrer Kombination.

Der Einsatz äquimolarer Arzneistoffkonzentrationen bewirkte keine signifikante Veränderung der Zersetzungsgeschwindigkeit im Vergleich zu 0,1-prozentigen Zubereitungen.

Betamethason besaß in allen untersuchten Rezepturen die größte Stabilität bei pH 5,0. Bemerkenswert ist, daß zwischen pH 5,5 und dem ungepufferten Medium meist nur geringe Unterschiede der Zersetzungsrates des Corticosteroids festzustellen waren. In einigen Zubereitungen war die Stabilität bei pH 5,5 sogar etwas schlechter. Die Ursache hierfür liegt möglicherweise in einer Verunreinigung der verwendeten Puffersubstanzen mit Schwermetallspuren, welche die Steroidzersehung beschleunigen.

Dimetindenmaleat zeigte im untersuchten pH-Bereich keine ausgeprägte pH-Abhängigkeit. Unter Berücksichtigung der Streßbelastung von 60°C ergab sich aber auch für das Antihistaminikum die beste Stabilität bei pH 5,0.

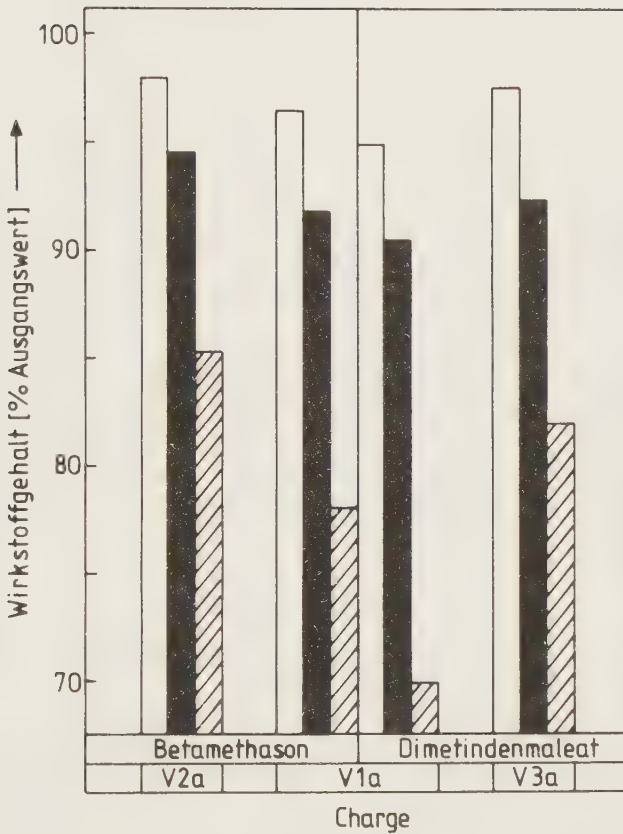


Abb. 45 Abbau von Betamethason und Dimetindenmaleat
als Einzelwirkstoffe und in Kombination in
Propylenglykol/Wasser-Mischungen in Abhän-
gigkeit von der Lagertemperatur
pH-Wert 5,0; Lagerzeit: 12 Wochen

□ 20°C ■ 40°C ▨ 60°C

Charge V 1a: Wirkstoffkombination

Charge V 2a: Einzelwirkstoff Betamethason

Charge V 3a: Einzelwirkstoff Dimetindenmaleat

3.2 Einfluß von Schwermetallverunreinigungen auf die Stabilität der Wirkstoffkombination

Ein Zusatz von Eisenionen zu den wirkstoffhaltigen Propylen-glykol/Wasser-Mischungen wirkte sich vor allem katalysierend auf die Zersetzung von Betamethason aus. Im ungepufferten Medium war das Corticosteroid unter Schwermetalleinfluß bei einer Lagertemperatur von 60°C nach acht Wochen vollständig abgebaut. Bei einem pH-Wert von 5,0 ließen sich unter gleichen Lagerbedingungen zu diesem Zeitpunkt noch 64,2% unzer-setzter Wirkstoff ermitteln.

Auch Dimetindenmaleat zeigte eine Zunahme der Zersetzungs-geschwindigkeit bei Anwesenheit von Schwermetallionen. Diese war bei niedrigen Lagertemperaturen vergleichsweise gering; bei 60°C ergab sich aber bei pH 5,0 nach dreimonatiger Lage-rung im Vergleich zur unbehandelten Rezeptur ein Wirkstoff-mehrverlust von 8,5%.

3.3 Einfluß peroxidischer Verunreinigungen auf die Sta-bilität der Wirkstoffkombination

Der Einfluß von Benzoylperoxid wirkte sich bei allen Lager-temperaturen sehr rasch auf die Stabilität beider Wirkstoffe aus. Das Antihistaminikum zeigte aber die größere Anfällig-keit gegenüber dem Peroxid. Nach dreimonatiger Lagerung bei 60°C war Dimetindenmaleat bei allen untersuchten pH-Werten zu mehr als 70% abgebaut; bei 20°C lagen die Wirkstoffver-luste zwischen 30 und 35%.

Dagegen ergab sich für Betamethason auch unter Peroxidein-fluß eine deutliche pH-Abhängigkeit der Zersetzungsrate. Die vergleichsweise stabilste Propylen-glykol/Wasser-Mischung von pH 5,0 enthielt nach drei Monaten bei einer Lagertemperatur von 60°C knapp 70% unzersetztes Steroid, bei 20°C etwa 85%.

3.4 Einfluß der Sauerstoffbelastung auf die Stabilität der Wirkstoffkombination

Während bei allen anderen Zubereitungen durch Inertbegasung die Anwesenheit von Luftsauerstoff weitgehend auszuschließen war, wurden die Rezepturen V 7 einer dreißigminütigen Sauerstoffbegasung ausgesetzt.

Beide Wirkstoffe unterlagen unter diesen Bedingungen gleichermaßen einer erhöhten Zersetzung, die bei der Lagertemperatur von 60°C besonders stark ausgeprägt war.

Betamethason besaß wiederum die höchste Stabilität bei pH 5,0. Im ungepufferten Medium wirkte sich die Sauerstoffbelastung am stärksten aus.

Das Antihistaminikum wurde bei der Lagertemperatur von 60°C ebenfalls in der ungepufferten Zubereitung am stärksten zersetzt. Bei niedrigeren Lagertemperaturen hatte der pH-Wert nur unwesentlichen Einfluß auf die Abbaurate des Dimetindenmaleats unter Sauerstoffbelastung.

3.5 Einfluß des Methanolzusatzes auf die Stabilität der Wirkstoffkombination

In der Rezeptur V 8 lag Betamethason aufgrund des Methanolzusatzes gelöst vor.

Der Abbau des Corticosteroids wurde in Lösung beschleunigt. Gleichzeitig nahm die Temperaturabhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit zu.

Abbildung 46 zeigt die deutlich erhöhte Abbaurate des gelösten Betamethasons im Vergleich zum suspendierten Steroid in der methanolfreien Propylenglykol/Wasser-Mischung bei 60°C.

Wie aus Abbildung 46 ebenfalls ersichtlich ist, wirkte sich der Methanolzusatz auf das wasserlösliche Antihistaminikum dagegen stabilisierend aus. Die Ursache hierfür liegt möglicherweise in einer Beeinflussung des Dimetindenabbaus durch die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels.

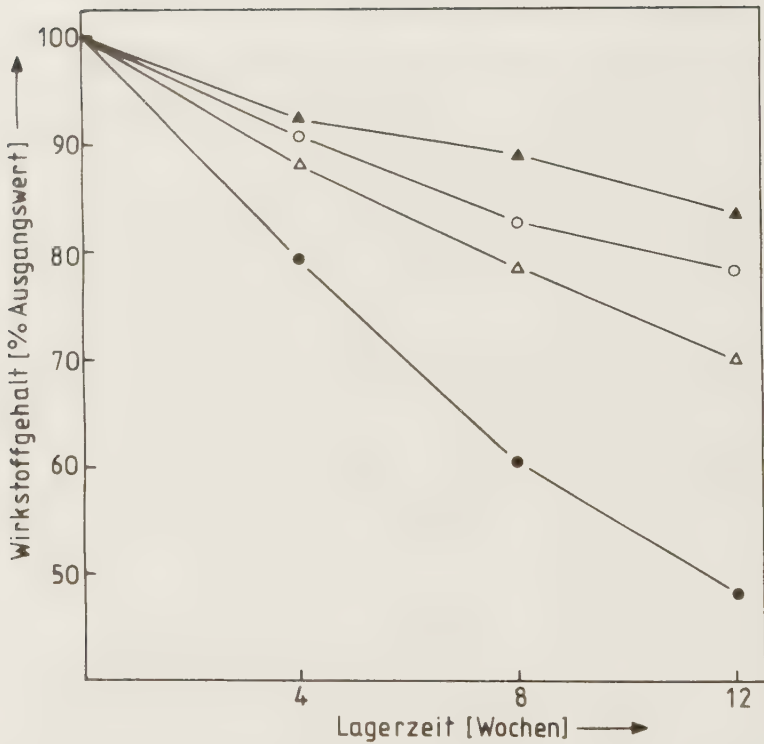


Abb. 46 Einfluß von Methanol (20 Gew.-%) auf den Abbau von Betamethason und Dimetindenmaleat in Propylenglykol/Wasser-Mischungen in Abhängigkeit von der Lagerzeit

pH-Wert 5,0; Lagertemperatur: 60°C

- o- Betamethason in Charge V 1a (Ausgangsrezeptur)
- Betamethason in Charge V 8 (Zusatz Methanol)
- Δ- Dimetindenmaleat in Charge V 1a (Ausgangsrezeptur)
- ▲- Dimetindenmaleat in Charge V 8 (Zusatz Methanol)

4. Untersuchungen zur Stabilität der Wirkstoffkombination in verschiedenen dermatischen Zubereitungen

Die Untersuchungsergebnisse in Propylenglykol/Wasser-Mischungen dienten als Grundlage für Stabilisierungsversuche der Wirkstoffe Betamethason und Dimetindenmaleat in halb-festen dermatischen Zubereitungen.

Da eine Übertragung der Vorgänge in Propylenglykol/Wasser-Mischungen auf die Verhältnisse in Zweiphasensystemen nicht ohne Einschränkungen möglich ist, wurden zunächst im Rezepturmaßstab an einigen O/W-Cremes vergleichende Stabilitätsuntersuchungen angestellt.

4.1 Stabilitätsuntersuchungen an Rezepturansätzen wirkstoffhaltiger O/W-Cremes

Um abzuklären, inwieweit in halbfesten Zweiphasensystemen eine Abhängigkeit der Wirkstoffzersetzung vom pH-Wert der Wasserphase und der Lagertemperatur besteht, wurden Betamethason und Dimetindenmaleat in verschiedene Ansätze einer nichtionischen Emulgatorkomplexsalbe verarbeitet.

Als Cremegrundlage diente eine im Arbeitskreis von Prof. THOMA als Monographieentwurf für das Arzneibuch entwickelte O/W-Emulsion.

Die wirkstoffhaltige Ausgangsrezeptur hatte folgende Zusammensetzung:

Betamethason	0,1
Dimetindenmaleat	0,1
Polysorbat 60	5,0
Cetylstearylalkohol	10,0
Weißes Vaseline	30,0
Glycerol 85%	10,0
gereinigtes Wasser	ad 100,0

Um vergleichende Aussagen zu den Propylenglykol/Wasser-Mischungen treffen zu können, wurde die Stabilität der Wirkstoffe in der Cremegrundlage bei ungepufferter Wasserphase sowie bei Pufferung auf pH 5,0 und 5,5 untersucht.

Die Konservierung der Zubereitungen erfolgte in Parallel-

untersuchungen mit p-Hydroxybenzoesäureestern sowie mit Sorbinsäure. Dabei sollte abgeklärt werden, ob sich durch mögliche Inaktivierung phenolischer Konservierungsmittel durch Wechselwirkungen mit dem nichtionischen O/W-Emulgator ein stabilitätsmindernder Einfluß auf die Arzneistoffe bemerkbar macht.

Zur Untersuchung der Temperaturabhängigkeit der Wirkstoffzersetzung wurden die Cremes bei 20°, 25°, 30° und 35°C gelagert. Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes in Abhängigkeit von Lagerzeit und Lagertemperatur erfolgte nach Extraktion aus den Emulsionen mit der unter 2. angegebenen HPLC-Methode.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten eine Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit beider Substanzen mit Erhöhung der Lagertemperatur. Wie in den Propylenglykol/Wasser-Mischungen wurde aber auch in Zweiphasensystemen die höhere Temperaturanfälligkeit für Dimetindenmaleat ermittelt. Wie aus Abbildung 47 hervorgeht, ergab sich nach einjähriger Lagerung bei 20°C und einer Wasserphase der Creme von pH 5,0 für beide Wirkstoffe ungefähr die gleiche Abbaurate. Bei höheren Lagertemperaturen verlief dagegen die Zersetzung des Dimetindenmaleats schneller.

Der pH-Wert der Wasserphase hatte im untersuchten Bereich nur geringen Einfluß auf die Stabilität des Antihistaminikums. Betamethason zeigte bei allen Lagertemperaturen die geringste Zersetzung bei pH 5,0. Auch dieses Ergebnis bestätigt die Befunde in Propylenglykol/Wasser-Mischungen.

Ein signifikanter Unterschied der Wirkstoffstabilität in Abhängigkeit vom verwendeten Konservierungsmittel ließ sich während einjähriger Lagerung nicht feststellen.

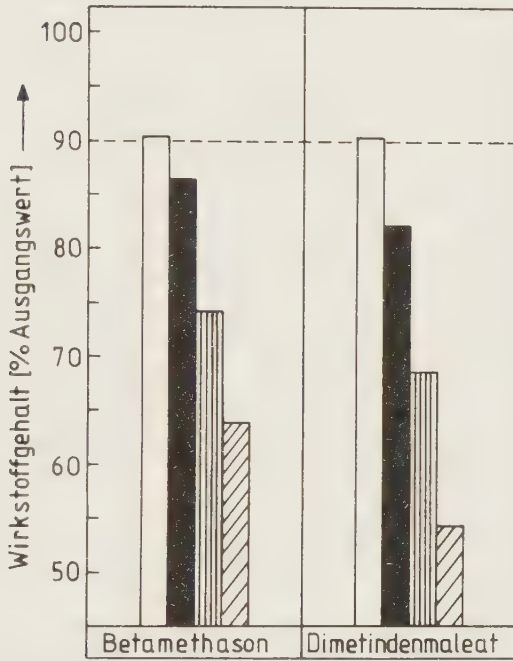


Abb. 47 Abbau von Betamethason und Dimetindenmaleat
bei Verarbeitung als Wirkstoffkombination
in eine O/W-Creme in Abhängigkeit von der
Lagertemperatur

Wasserphase pH 5,0; Lagerzeit: 12 Monate

□ 20°C ■ 25°C ▨ 30°C ▩ 35°C

4.2 Stabilisierung wirkstoffhaltiger O/W-Cremes bei Herstellung im geschlossenen System

Unter Zugrundelegung der Ergebnisse in Propylenglykol/Wasser-Mischungen sowie in Rezepturansätzen halbfester O/W-Cremes wurden mit dem Ziel der Entwicklung einer lagerstabilen Zubereitung mit den Wirkstoffen Betamethason und Dimetindenmaleat Stabilisierungsversuche dieser Wirkstoffkombination in verschiedenen O/W-Grundlagen unternommen.

Die Herstellung der Rezepturen erfolgte unter Ausschluß von Luftsauerstoff in einer kleinen Prozeßanlage im Technikumsmaßstab (Ansätze je 5 kg). Um eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurden Kriterien wie Aufheiz- und Abkühlgeschwindigkeit, Emulgiertemperatur, Dauer und Intensität der Rühr- und Emulgiervorgänge festgelegt und bei der Herstellung jeder Zubereitung genau eingehalten. Die Abfüllung der Cremes erfolgte in 50 g Aluminiumtuben mit Innenschutzlackierung.

In die vorliegenden Untersuchungen wurden drei halbfeste O/W-Grundrezepturen einbezogen, deren Zusammensetzung im folgenden angegeben ist:

Grundrezeptur A	Betamethason	0,10
	Dimetindenmaleat	0,10
	Polysorbat 60	5,00
	Cetylstearylalkohol	10,00
	Weißes Vaseline	25,00
	Propylenglykol	10,00
	Sorbinsäure	0,10
	Kaliumsorbit	0,10
	gereinigtes Wasser	ad 100,00

Grundrezeptur B	Betamethason	0,10
	Dimetindenmaleat	0,10
	Polysorbat 60	5,00
	Cetylstearylalkohol	10,00
	Weißes Vaseline	25,00
	Propylenglykol	20,00
	Sorbinsäure	0,10
	Kaliumsorbit	0,10
	gereinigtes Wasser	ad 100,00

Grundrezeptur C	Betamethason	0,10	
	Dimetindenmaleat	0,10	
	Cremophor A 25	2,00	
	Glycerinmonostearat	8,50	
	Cetylalkohol	2,00	
	dickflüssiges Paraffin	6,00	
	Propylenglykol	6,00	
	Ethanol	0,20	
	p-Hydroxybenzoesäure- methylester	0,15	
	gereinigtes Wasser	ad 100,00	

Grundrezeptur A entspricht weitgehend der für die Rezepturansätze verwendeten Grundlage. Anstelle von Glycerin 85% wurde jedoch Propylenglykol verwendet. Gleichzeitig wurde der Wassergehalt etwas erhöht.

Grundrezeptur B besitzt qualitativ die gleiche Zusammensetzung wie Grundrezeptur A. Durch Veränderung des Mischungsverhältnisses Propylenglykol/Wasser wurde untersucht, inwieweit die Dielektrizitätskonstante der Wasserphase Einfluß auf die Zersetzungsgeschwindigkeit der Wirkstoffe nimmt. Bei Grundrezeptur C handelt es sich ebenfalls um eine nicht-ionische Creme. Sie ist aber aufgrund ihres höheren Wassergehaltes von wesentlich geringerer Viskosität.

Mit Ausnahme der Rezeptur C 1 wurden die Wasserphasen aller Zubereitungen mit Citronensäure/Dinatriumhydrogenphosphat-Puffer nach McIlvaine auf pH 5,0 gepuffert, da sich dieser pH-Wert für die Stabilität des Steroids als am günstigsten erwiesen hatte. Die Verwendung von Citronensäure als Pufferkomponente diente gleichzeitig der Inaktivierung möglicher Schwermetallverunreinigungen durch Komplexbildung (110).

Durch Zusatz verschiedener Stabilisatoren zu den Grundrezepturen wurde versucht, Einfluß auf oxidative Abbaureaktionen der Wirkstoffe zu nehmen. Die Variationen der Grundrezepturen sind im einzelnen der Tabelle 25 zu entnehmen.

Wasserlösliche Stabilisatorzusätze wurden vom Wassergehalt abgezogen, lipophile Zusätze vom Gehalt an Vaseline bzw. in Grundrezeptur C vom Paraffingehalt.

Charge	Grund- rezeptur	pH-Wert der Wasserphase	Stabilisierungszusätze
A 1	A	5,0	keine
A 2	A	5,0	Na-EDTA 0,1%
A 3	A	5,0	Na-Pyrosulfit 0,1%
A 4	A	5,0	Cystein 0,02%
A 5	A	5,0	Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1%
A 6	A	5,0	Na-EDTA 0,1%/Cystein 0,02%
A 7	A	5,0	α -Tocopherol 0,05%
A 8	A	5,0	Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1% α -Tocopherol 0,05%
A 9	A	5,0	Na-EDTA 0,1%/Cystein 0,02% α -Tocopherol 0,05%
B 1	B	5,0	keine
B 2	B	5,0	Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1% α -Tocopherol 0,05%
C 1	C	ungepuffert	keine
C 2	C	5,0	keine
C 3	C	5,0	Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1% α -Tocopherol 0,05%

Tab. 25 Abwandlung der Grundrezepturen A-C bei der Herstellung von O/W-Cremes mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat

Die Veränderung des Wirkstoffgehaltes in den Zubereitungen A 1 - C 3 wurde über einen Lagerzeitraum von sechs Monaten bei Lagertemperaturen von 20°, 25° und 35°C verfolgt. Die quantitative Analyse der Arzneistoffe erfolgte nach Extraktion aus den Cremes mittels der unter 2. angegebenen HPLC-Methode.

Einfluß der Lagertemperatur

In den unter Sauerstoffausschluß hergestellten O/W-Cremes wurde Dimetindenmaleat bei allen untersuchten Lagertemperaturen rascher abgebaut als Betamethason.

In Tabelle 26 sind die durchschnittlichen Zersetzungsraten der beiden Wirkstoffe in den 14 untersuchten Rezepturen nach sechsmonatiger Lagerung verglichen. Wie die Werte zeigen, war die Temperaturabhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit des Antihistaminikums wesentlich größer als die des Steroids. Bei

Lagertemperaturen von 35°C wurde Dimetindenmaleat fast doppelt so schnell abgebaut wie Betamethason.

Wirkstoff	Wirkstoffverlust [%]		
	20°C	25°C	35°C
Betamethason	2,1	3,8	7,2
Dimetindenmaleat	3,3	5,7	14,2

Tab. 26 Durchschnittliche Abbaurate der Wirkstoffe Betamethason und Dimetindenmaleat in O/W-Cremes nach sechsmonatiger Lagerung in Abhängigkeit von der Lagertemperatur (n = 14)

Einfluß verschiedener Stabilisierungszusätze

Während des relativ kurzen Untersuchungszeitraumes von sechs Monaten ergaben sich bei niedrigen Lagertemperaturen für das Corticosteroid keine wesentlichen Unterschiede der Abbauraten in Abhängigkeit von den Stabilisatorzusätzen.

Bedingt durch die sauerstofffreie Herstellung im geschlossenen System besaß Betamethason auch in den unstabilisierten Rezepturen (A 1, B 1, C 2) bei 20° und 25°C eine gute Lagerstabilität. Wie der Vergleich zur ungepufferten Rezeptur C 1 zeigt, wirkte sich dabei auch der Zusatz von Citronensäure positiv aus.

Bei einer Streßbelastung von 35°C war der Einfluß der Stabilisatoren dagegen deutlicher erkennbar. So wurde Betamethason in allen Rezepturen, die neben der Citronensäure einen weiteren Komplexbildner enthielten, langsamer abgebaut. In Gegenwart von Na-EDTA betrug der Wirkstoffverlust nach sechsmonatiger Lagerung bei 35°C 5-6%, ohne diesen Zusatz dagegen 8,5-12,5%.

Zusätze von Redoxstabilisatoren oder Antioxidans verbesserten die Steroidstabilität dagegen nur um 1-3%.

Unter Zugrundelegung der Ergebnisse bei 35°C Lagertemperatur

zeigte Betamethason zwar die höchste Stabilität bei Kombination der Stabilisatorzusätze in Rezeptur A 8, der Unterschied zu allen anderen Rezepturen, die den Komplexbildner enthielten, war jedoch gering.

Aus Abbildung 48 sind die Auswirkungen der Stabilisatoren bei Zugabe als Einzelsubstanzen ersichtlich.

Den größten Wirkstoffverlust erlitt Betamethason in der ungepufferten und unstabilisierten Rezeptur C 1. Bei Lagerung bei 20°C waren hier nach sechs Monaten 5,1, bei 25°C 7,9 und bei 35°C 12,5% des Steroids abgebaut.

Für Dimetindenmaleat ergab sich bei niedrigen Lagertemperaturen keine Stabilitätsverbesserung durch Zusatz des Komplexbildners. Auch bei 35°C war die stabilisierende Wirkung durch Na-EDTA gering.

Wie Abbildung 48 zeigt, ließ sich die Abbaurate des Antihistaminikums am effektivsten durch Zugabe eines Redoxstabilisators beeinflussen. Bei Zugrundelegung der Ergebnisse aller Lagertemperaturen ergab sich dabei kein signifikanter Unterschied zwischen Natriumpyrosulfit und Cystein.

Der Zusatz des Antioxidans erbrachte auch für das Antihistaminikum nur eine geringfügige Stabilitätsverbesserung.

Die Zersetzungsgeschwindigkeit des Dimetindenmaleats war ebenfalls in Rezeptur C 1 am größten. Im Falle des Antihistaminikums ist dies wahrscheinlich weniger auf die ungepufferte Wasserphase der Creme als auf den höheren Wassergehalt bzw. die größere Dielektrizitätskonstante zurückzuführen.

Unter Zugrundelegung der Abbauraten beider Wirkstoffe erwies sich eine Stabilisierung unter Zusatz von Komplexbildner, Redoxstabilisator und Antioxidans am wirkungsvollsten.

Abbildung 49 zeigt die Verbesserung der Arzneistoffstabilität bei Zugabe dieser Stabilisatorkombination. Der Wirkstoffverlust war jedoch nicht signifikant höher bei Verzicht auf das Antioxidans.

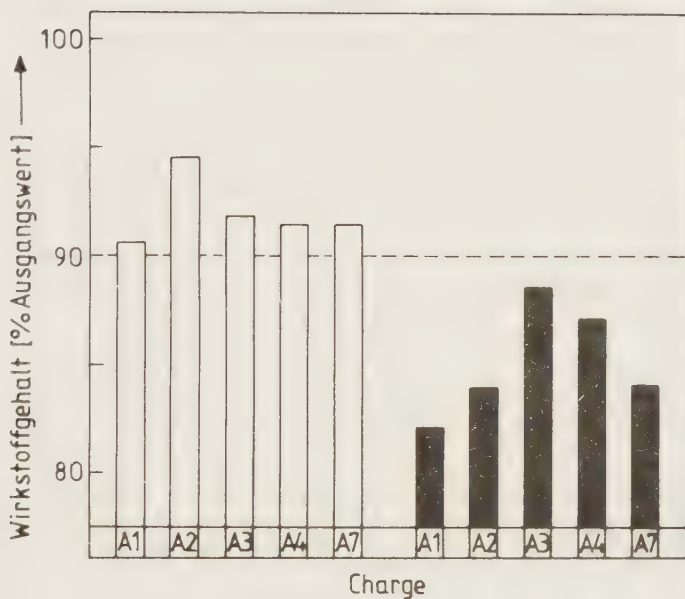


Abb. 48 Einfluß von Stabilisatoren auf den Abbau von Betamethason und Dimetindenmaleat in O/W-Cremes

Lagertemperatur: 35°C; Lagerzeit: 6 Monate

□ Betamethason
 ■ Dimetindenmaleat

Charge A 1: Ausgangsrezeptur
 Charge A 2: Zusatz Na-EDTA
 Charge A 3: Zusatz Na-Pyrosulfit
 Charge A 4: Zusatz Cystein
 Charge A 7: Zusatz α -Tocopherol

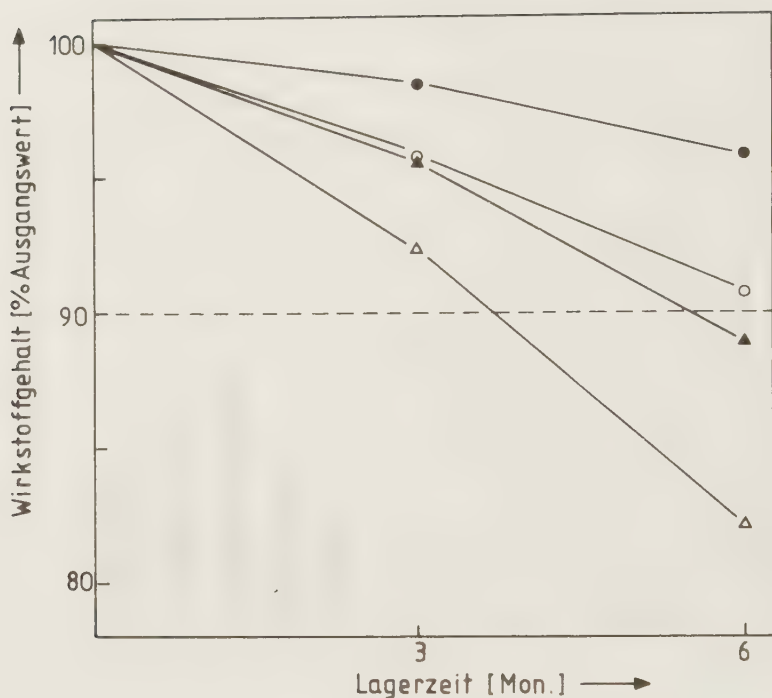


Abb. 49 Einfluß einer Stabilisatorkombination von Na-EDTA, Na-Pyrosulfit und α -Tocopherol auf den Abbau von Betamethason und Dimetindenmaleat in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lagerzeit

Lagertemperatur: 35°C

- o- Betamethason in Charge A 1 (Ausgangsrezeptur)
- Betamethason in Charge A 8 (Stabilisatorzusatz)
- △- Dimetindenmaleat in Charge A 1 (Ausgangsrezeptur)
- ▲- Dimetindenmaleat in Charge A 8 (Stabilisatorzusatz)

Einfluß der Dielektrizitätskonstante

Zur Abklärung eines möglichen Einflusses der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase auf die Zersetzungsgeschwindigkeit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat in O/W-Emulsionen wurden Zubereitungen mit erhöhtem Propylenglykolgehalt hergestellt (Grundrezeptur B).

Die unstabilisierten Rezepturen A 1 und B 1 bzw. die stabilisierten Cremes A 8 und B 2 unterscheiden sich demnach nur in den Dielektrizitätskonstanten ihrer Wasserphasen.

Die zugehörigen DK-Werte bei 25°C sind aus Tabelle 27 ersichtlich. Ihre Berechnung erfolgte durch Interpolation der von SORBY und Mitarbeitern (168) ermittelten Dielektrizitätskonstanten verschiedener Propylenglykol/Wasser-Mischungen. Die Zahlen beziehen sich dabei auf die reinen Mischungen ohne Pufferzusatz. Da bei den vorliegenden Untersuchungen die eingesetzten Puffersubstanzen sowie die Ionenstärke konstant gehalten wurden, ist jedoch nicht mit einer Verfälschung der Ergebnisse durch diesen Einfluß zu rechnen.

Die nicht ganz identischen DK-Werte der A- bzw. B-Rezepturen ergeben sich durch Subtraktion einiger Stabilisierungszusätze vom Wassergehalt.

Charge	Wasserphase [Gew. %]	Wassergehalt [Gew. %]	Propylenglykolgehalt [Gew. %]	Propylenglykolgehalt der Wasserphase [Gew. %]	Dielektrizitätskonstante DK 25°C
A 1	58,3	48,3	10,0	17,2	73,45
A 8	58,1	48,1	10,0	17,2	73,42
B 1	58,6	38,6	20,0	34,2	64,10
B 2	58,4	38,4	20,0	34,3	64,03

Tab. 27 Dielektrizitätskonstanten der Wasserphasen stabilisierter und unstabilisierter O/W-Cremes mit den Wirkstoffen Betamethason und Dimetindenmaleat

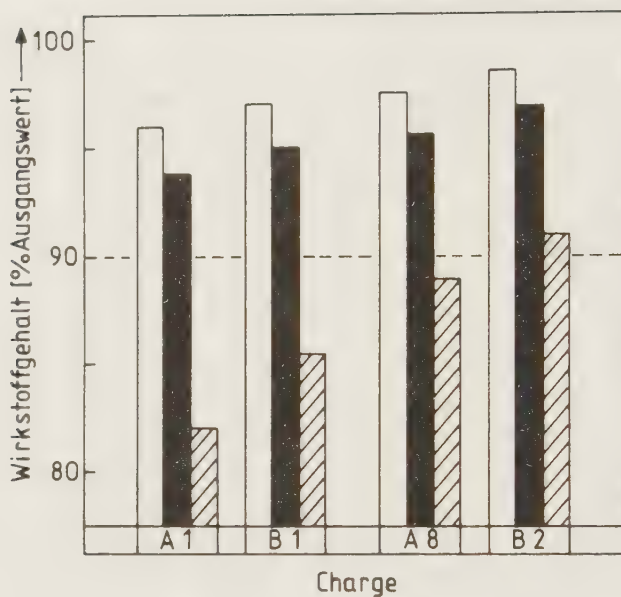


Abb. 50 Einfluß der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase auf den Abbau von Dimetindenmaleat in O/W-Cremes in Abhängigkeit von der Lager-
temperatur

Lagerzeit: 6 Monate

□ 20°C

■ 25°C

▨ 35°C

Charge A 1 ($DK_{25^\circ} = 73,45$): Ausgangsrezeptur A

Charge B 1 ($DK_{25^\circ} = 64,10$): Ausgangsrezeptur B

Charge A 8 ($DK_{25^\circ} = 73,42$): Stabilisatorzusatz

Charge B 2 ($DK_{25^\circ} = 64,03$): Stabilisatorzusatz

Wie aus Abbildung 50 hervorgeht, wurde die Stabilität von Dimetindenmaleat sowohl in Gegenwart von Stabilisierungszusätzen als auch in unstabilisierten Cremes durch Herabsetzung der Dielektrizitätskonstante verbessert. Am deutlichsten wurde dieser Einfluß bei einer Streßbelastung der Zubereitungen von 35°C.

Für Betamethason ließen sich nach sechsmonatiger Lagerung keine signifikanten Unterschiede der Zersetzungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase im untersuchten Bereich ermitteln.

4.3 Stabilisierung wirkstoffhaltiger W/O-Salben bei Herstellung im geschlossenen System

Eine weitere Untersuchung zur Stabilität der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat galt der Abklärung des Zersetzungsverhaltens dieser Arzneistoffe in W/O-Emulsionen.

Folgende halb feste W/O-Rezeptur wurden den Untersuchungen zugrundegelegt:

Grundrezeptur D	Betamethason	0,10
	Dimetindenmaleat	0,10
	Protegin X	36,00
	Wollwachs	2,50
	Glycerin wasserfrei	2,50
	Ethanol	0,20
	p-Hydroxybenzoesäure-methylester	0,15
	gereinigtes Wasser	ad 100,00

Die Herstellung der wirkstoffhaltigen W/O-Salben erfolgte ebenfalls unter Ausschluß von Luftsauerstoff im geschlossenen System nach einem in Vorversuchen festgelegten Herstellungsplan.

Die Variationen der Grundrezeptur D sind aus Tabelle 28 ersichtlich.

Sofern die Wasserphase gepuffert wurde, geschah dies unter Verwendung von Citronensäure/Dinatriumhydrogenphosphat-Puffer nach McIlvaine.

Die Veränderung des Wirkstoffgehaltes in den Rezepturen D 1 - D 3 wurde über einen Lagerzeitraum von sechs Monaten bei Lagertemperaturen von 20°, 25° und 35°C verfolgt.

Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes nach Ausschüttelung der Salben erfolgte mittels der unter 2. angegebenen HPLC-Analytik.

Charge	Grund-rezeptur	pH-Wert der Wasserphase	Stabilisierungszusätze
D 1	D	ungepuffert	keine
D 2	D	5,0	keine
D 3	D	5,0	Na-EDTA/Na-Pyrosulfit je 0,1% α -Tocopherol 0,05%

Tab. 28 Abwandlung der Grundrezeptur D bei der Herstellung von W/O-Salben mit der Wirkstoffkombination Beta-methason/Dimetindenmaleat

Wie aus Abbildung 51 hervorgeht, besaß Dimetindenmaleat in der ungepufferten W/O-Zubereitung (Rezeptur D 1) bei Lagertemperaturen von 20° und 25°C eine etwas bessere Stabilität als Betamethason. Durch Streßbelastung von 35°C wurde jedoch wieder die größere Temperaturabhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit des Antihistaminikums deutlich.

Bei der Beurteilung der für Rezeptur D 1 ermittelten Wirkstoffgehalte muß berücksichtigt werden, daß diese Zubereitung nach sechsmonatiger Lagerung bei allen Temperaturen starke Inhomogenität bis Phasentrennung zeigte. Dadurch ergab sich eine höhere Wertestreuung.

Die Pufferung der Wasserphase auf pH 5,0 (Rezeptur D 2) erbrachte für das Steroid eine deutliche Stabilitätsverbesserung bei allen untersuchten Lagertemperaturen. Auf Dimetindenmaleat wirkte sich die gepufferte Wasserphase dagegen nur bei 35°C stabilisierend aus.

Die Zugabe der Stabilisatorkombination verminderte die Abbaurate beider Wirkstoffe. So ließen sich nach sechsmonatiger Lagerung in Rezeptur D 3 bei allen Temperaturen sowohl für das Corticosteroid als auch für das Antihistaminikum Konzentrationen von mehr als 90% des Ausgangswertes ermitteln.

Der Einfluß der einzelnen Stabilisatoren wurde in W/O-Salben nicht untersucht. Es ist jedoch zu vermuten, daß aufgrund des Gehaltes an Adeps lanae auch das Antioxidans für die verbesserte Arzneistoffstabilität in Rezeptur D 3 verantwortlich ist.

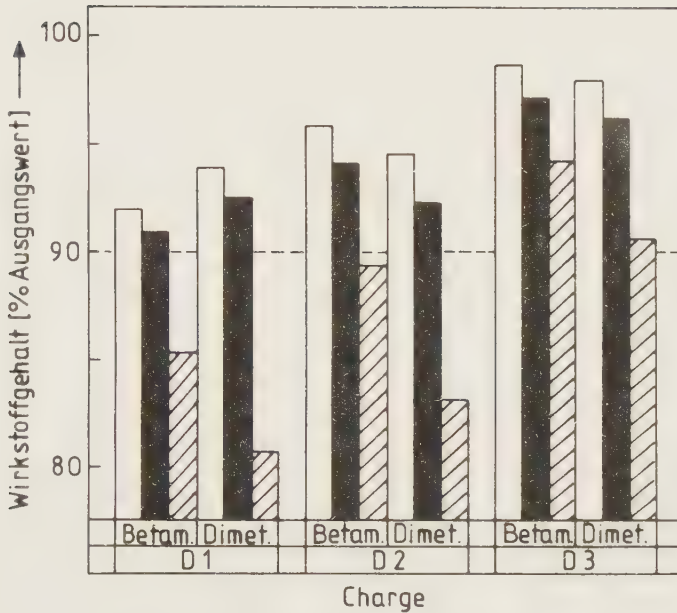


Abb. 51 Einfluß verschiedener Stabilisierungsmaßnahmen auf den Abbau von Betamethason und Dimetindene-maleat in W/O-Salben in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 6 Monate

□ 20°C ■ 25°C ▨ 35°C

Charge D 1: ungepuffert; keine Stabilisatoren

Charge D 2: Pufferung pH 5,0; keine Stabilisatoren

Charge D 3: Pufferung pH 5,0; Zusatz Na-EDTA,
Na-Pyrosulfit, α -Tocopherol

4.4 Stabilisierung wirkstoffhaltiger Hydrogele bei Herstellung im geschlossenen System

Untersuchungen zur Stabilität der Wirkstoffkombination Beta-methason/Dimetindenmaleat in Hydrogelen erfolgten in wäßrigen und wäßrig-alkoholischen Grundlagen auf der Basis des anionischen Gelbildners Polyacrylat (Carbopol®).

Alle in die Untersuchungen einbezogenen Gele wurden wiederum im geschlossenen System unter Ausschluß von Luftsauerstoff bei konstanten Bedingungen hergestellt.

Aus Tabelle 29 ist die Zusammensetzung der einzelnen Hydrogele ersichtlich:

Rezepturbestandteile	G e h a l t [Gew. %]		
	Rezeptur E 1	Rezeptur E 2	Rezeptur E 3
Betamethason	0,10	0,10	0,10
Dimetindenmaleat	0,10	0,10	0,10
Carbopol 940	0,50	0,50	1,00
NaOH 30%	0,50	0,40	-
Triäthanolamin	-	-	1,00
Isopropanol 90%	-	-	30,00
Propylenglykol	15,00	15,00	15,00
p-Hydroxybenzoesäuremethylester	0,15	0,15	0,15
Na-EDTA	-	0,10	0,10
Na-Pyrosulfit	-	0,10	0,10
gereinigtes Wasser	83,65	83,55	52,45
pH-Wert	6,4	6,0	(6,4)

Tab. 29 Zusammensetzung und pH-Wert der untersuchten Hydrogele

Rezeptur E 2 unterscheidet sich von E 1 durch Verminderung des Zusatzes an Neutralisationsmittel. Dadurch liegt der pH-Wert dieser Zubereitung um 0,4 Einheiten tiefer. Weiterhin wurden Rezeptur E 2 Stabilisatoren zugegeben.

Im Gegensatz zu den rein wäßrigen Gelen enthält die isopropanolisch-wäßrige Zubereitung E 3 Triäthanolamin als Neutralisationsmittel. In diesem Hydrogel liegt Betamethason aufgrund des Alkoholgehaltes gelöst vor. Rezeptur E 3 enthält ebenfalls einen Stabilisatorzusatz.

Die Hydrogele wurden über einen Lagerzeitraum von sechs Monaten bei Lagertemperaturen von 20°, 25° und 35°C untersucht. Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes erfolgte mit der unter 2. angegebenen HPLC-Methode.

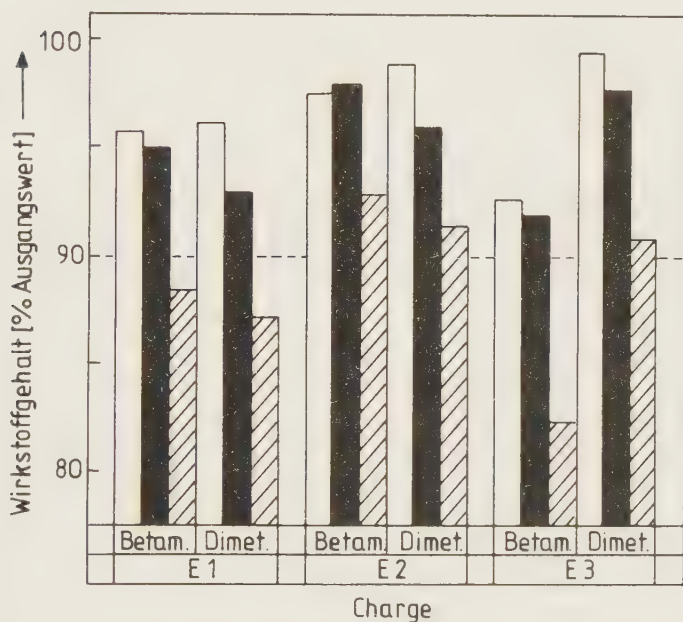


Abb. 52 Einfluß verschiedener Stabilisierungsmaßnahmen (siehe Tab. 29) auf den Abbau von Betamethason und Dimetindenmaleat in Hydrogelen in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

Lagerzeit: 6 Monate

□ 20°C ■ 25°C ▨ 35°C

Wie Abbildung 52 zeigt, war die Abbaurrate der beiden Wirkstoffe im wäßrigen Hydrogel von pH 6,4 (Rezeptur E 1) bei einer Lagertemperatur von 20°C etwa gleich. Bei erhöhter Temperatur wurde Dimetindenmaleat schneller zersetzt. Beide Sub-

stanzen lagen aber nach sechsmonatiger Lagerung bei 20° und 25°C in Konzentrationen von deutlich über 90% des Ausgangswertes vor.

Durch Senkung des pH-Wertes sowie Zusatz eines Komplexbildners und eines Redoxstabilisators ließ sich die Stabilität beider Wirkstoffe wesentlich verbessern. In Rezeptur E 2 wurden bei allen Lagertemperaturen nach sechs Monaten Arzneistoffkonzentrationen über 90% ermittelt.

In der alkoholisch-wäßrigen Rezeptur E 3, in der Betamethason gelöst vorliegt, erlitt das Corticosteroid dagegen einen deutliche Stabilitätsverlust.

Auf das Antihistaminikum wirkte sich der Isopropanolzusatz stabilisierend aus. Es ist anzunehmen, daß dies u.a. auf die verminderte Dielektrizitätskonstante zurückzuführen ist.

5. Beeinflussung physikalisch-chemischer Eigenschaften
der Kombinationspräparate in Abhängigkeit von Lager-
temperatur und Lagerzeit

5.1 Veränderungen der Partikelgröße

Während Dimetindenmaleat in der Wasserphase aller untersuchter Zubereitungen löslich war, lag Betamethason mit Ausnahme des isopropanolischen Hydrogels E 3 als suspendierter Wirkstoff in den Dermatika vor.

Um abzuklären, inwieweit mit einem Kristallwachstum des Steroids in den verschiedenen dermatischen Arzneiformen in Abhängigkeit von der Lagertemperatur gerechnet werden muß, wurden an ausgewählten Rezepturen mikroskopische Teilchengrößenbestimmungen nach Herstellung sowie nach sechsmonatiger Lagerung vorgenommen.

Die Bestimmung der Partikelgrößen erfolgte in Anlehnung an die Vorschriften der Pharm. Helv. VI sowie des 2. AB-DDR.

Die in mikronisierter Form bezogene Betamethason-Reinsubstanz wies Partikelgrößen zwischen $<1 - 35 \mu\text{m}$ auf; etwa 90% der Kristalle lagen im Größenbereich $<1 - 12 \mu\text{m}$.

Die mikroskopische Untersuchung nach Herstellung der Rezepturen zeigte bei den höher viskosen Zubereitungen (Rezepturen A, B, D) vereinzelte Kristallagglomerate. In den geringer viskosen O/W-Cremes (Rezepturen C) sowie den Hydrogelen (Rezepturen E) waren dagegen keine Wirkstoffaggregate zu erkennen. Gleichzeitig erschien die Wirkstoffverteilung in diesen Rezepturen homogener.

Wie aus Tabelle 30 hervorgeht, war in allen untersuchten Zubereitungen nach sechsmonatiger Lagerung bei 35°C ein deutliches Partikelwachstum zu verzeichnen.

Charge	Teilchengröße in μm							
	Untersuchungs- beginn		Lagerzeit 6 Monate					
			20°C		25°C		35°C	
	x	y	x	y	x	y	x	y
A 1*	<1-25	44	1-25	72	1-35	98	5-40	128
A 8*	<1-20	38	1-20	80	1-35	80	5-35	96
B 1*	<1-20	60	5-25	62	5-35	84	10-40	144
C 1	<1-10	16	<1-15	96	1-15	62	5-30	92
C 3	<1-10	28	<1-15	48	1-15	56	5-30	102
D 1*1)	<1-25	76	5-40	96	5-55	140	15-60	172
D 3*	<1-25	52	5-40	80	5-40	92	10-50	128
E 1	<1-10	24	<1-10	28	<1-10	26	5-20	80
E 3	<1-10	18	<1-10	42	<1-10	36	5-20	94

Tab. 30 Zunahme der Betamethason-Teilchengröße in Dermatika mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat nach sechsmonatiger Lagerung in Abhängigkeit von der Lagertemperatur

x Größenbereich von 90% der Partikel
 (Teilchengrößen $\leq 1 - 100 \mu\text{m}$ Einteilung in
 Klassenbreiten von $5 \mu\text{m}$
 Teilchengrößen $> 100 \mu\text{m}$ Einteilung in
 Klassenbreiten von $10 \mu\text{m}$)

y größtes jeweils nachgewiesenes Partikel

* partiell Agglomeratbildung

1) Zubereitung nach sechs Monaten gebrochen

In den Emulsionen nahmen die Teilchengrößen auch bei Lagertemperaturen von 20° und 25°C zu. Das Kristallwachstum war dabei in den O/W-Zubereitungen mit höherem Wassergehalt (Rezepturen C) geringer als in den viskosereren Cremes (Rezepturen A und B). Die deutlichste Zunahme der Partikelgrößen ergab

sich in den W/O-Salben (Rezepturen D).

In den wäßrigen Hydrogelen (Rezepturen E) veränderten sich die Teilchengrößen bei Lagertemperaturen von 20° und 25°C kaum.

Nach sechsmonatiger Lagerung erfüllten alle untersuchten Rezepturen bei Aufbewahrungstemperaturen zwischen 20° und 35°C die Anforderungen der Pharm. Helv. VI. Den Forderungen des 2. AB-DDR entsprachen beide Hydrogele sowie eine O/W-Emulsion bei 20° und 25°C.

5.2 Veränderungen des pH-Wertes

Aufgrund von Vor Versuchsergebnissen, die für Betamethason im untersuchten pH-Bereich die beste Stabilität bei pH 5,0 ergeben hatten, wurden die Wasserphasen der überwiegenden Zahl der im geschlossenen System hergestellten Emulsionen auf diesen pH-Wert gepuffert. Lediglich die Rezepturen C 1 und D 1 sowie die Hydrogele wurden ohne Pufferzusatz hergestellt.

Die pH-Werte aller O/W-Cremes und Hydrogele wurden nach Herstellung überprüft. Um abzuklären, ob der pH-Wert dieser Zubereitungen im Laufe der Lagerung Veränderungen unterliegt, wurden an ausgewählten Rezepturen nach sechsmonatiger Lagerzeit die pH-Messungen wiederholt.

Wie aus Tabelle 31 hervorgeht, veränderte sich der pH-Wert der Wasserphasen in den auf pH 5,0 gepufferten O/W-Cremes (Rezepturen A 8, C 2) nicht.

In der ungepufferten O/W-Emulsion (Rezeptur C 1) wurde dagegen ein deutliches Absinken des pH-Wertes festgestellt, das sich nach sechsmonatiger Lagerung bei 25° und 35°C auf 0,7 pH-Einheiten belief. In dieser Zubereitung unterlag Betamethason gleichzeitig einer stärkeren Zersetzung als in den anderen O/W-Cremes.

Die Untersuchung des ungepufferten, wäßrigen Hydrogels E 1 ergab nur eine geringfügige Veränderung des pH-Wertes. In der Rezeptur E 2, die mit einer geringeren Menge NaOH neutrali-

siert worden war, sank der pH-Wert bei Lagertemperaturen von 25° und 35°C um 0,3 Einheiten ab.

Charge	pH-Wert bei Untersuchungs- beginn	pH-Wert nach 6 Monaten		
		20°C	25°C	35°C
A 8	5,0	5,1	5,0	5,1
C 1	5,4	4,8	4,7	4,7
C 2	5,0	5,0	5,1	5,0
E 1	6,4	6,3	6,2	6,3
E 2	6,0	5,9	5,7	5,7

Tab. 31 Veränderungen des pH-Wertes in O/W-Cremes und Hydrogelen mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat im Verlauf einer Lagerung bei 20°, 25° und 35°C

5.3 Veränderungen der Konsistenz

Zur Untersuchung möglicher Konsistenzveränderungen der verschiedenen dermatischen Zubereitungsformen mit den Wirkstoffen Betamethason und Dimetindenmaleat wurden an ausgewählten Rezepturen Penetrometermessungen mit dem Mikrokonus nach Klein vorgenommen.

Die Bestimmungen erfolgten zwei Wochen nach Herstellung der Dermatika sowie nach sechsmonatiger Lagerung in Abhängigkeit von der Lagertemperatur.

Charge	E i n s i n k t i e f e [0,1 mm]			
	Untersuchungs- beginn	Lagerzeit 6 Monate		
		20°C	25°C	35°C
A 8	153	148	141	135
B 2	143	128	129	126
C 3	212	201	203	194
D 3	83	96	94	91
E 1	159	157	157	159
E 2	313	311	303	300
E 3	188	183	185	176

Tab. 32 Einfluß der Lagertemperatur und der Lagerzeit auf die Konsistenz von Dermatika mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat

Meßtemperatur 20°C ± 0,5°C

Mittelwerte aus je 4 Messungen

Wie aus Tabelle 32 ersichtlich ist, ergab sich bei allen wirkstoffhaltigen O/W-Cremes (Rezepturen A 8, B 2, C 3) nach sechsmonatiger Lagerung eine Zunahme der Konsistenz, die bei Streßbelastung von 35°C am stärksten ausgeprägt war.

Die untersuchte W/O-Zubereitung wurde dagegen während der Lagerung etwas weicher, wobei die niedrigeren Lagertemperaturen zu einer geringeren Konsistenz führten.

Die bei den Penetrationsmessungen nicht berücksichtigte W/O-Zubereitung D 1 war nach sechsmonatiger Lagerung bei allen Temperaturen gebrochen.

Bei Berücksichtigung der Fehlerbreite der Meßmethode erfuhren die untersuchten Hydrogele keine wesentlichen Konsistenzänderungen während der Lagerung.

5.4 Veränderung rheologischer Eigenschaften

Neben den penetrometrischen Konsistenzbestimmungen wurden an ausgewählten Dermatika auch rheologische Untersuchungen mit dem Rotationsviskosimeter vorgenommen. Die Aufnahme von Fließkurven erfolgte zwei Wochen nach Herstellung der Zubereitungen sowie nach sechsmonatiger Lagerung bei 20°, 25° und 35°C.

Wie aus Abbildung 53 hervorgeht, zeigten die Hydrogele E 1 und E 3 erwartungsgemäß plastisches Fließverhalten, wobei das alkoholisch-wäßrige Gel eine niedrigere Fließgrenze und geringere Quasiviskositätswerte besaß. Das Rheogramm des Gels E 2 zeigte bei deutlich geringerer Viskosität ein pseudoplastisches Fließverhalten.

Die Hydrogele besaßen keine thixotropen Eigenschaften, d.h. Aufwärts- und Abwärtskurve waren im Rheogramm identisch. Eine signifikante Zunahme der Quasiviskositätswerte in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit wurde für diese Zubereitungen nicht ermittelt (Tabelle 33).

Alle untersuchten O/W-Cremes besaßen nach Herstellung ein plastisch-thixotropes Fließverhalten. Fließgrenze und Quasiviskositätswerte der Rezeptur C 3 lagen aufgrund des höheren Wassergehaltes dieser Zubereitung erwartungsgemäß wesentlich tiefer als bei den anderen Cremes.

Wie aus Tabelle 33 hervorgeht, ergaben sich für die Rezeptur B 2 bei der höchsten untersuchten Drehzahl ($n = 256$) niedrigere Quasiviskositätswerte als für die Rezeptur A 8. Dagegen war die Fließgrenze bei höherem Propylenglykolanteil der Wasserphase (Rezeptur B 2) größer.

Das thixotrope Verhalten nach der Herstellung nahm innerhalb der untersuchten O/W-Cremes in der Reihenfolge $C < A < B$ zu. Ebenso wie die ermittelten Quasiviskositätswerte (Tabelle 33) stiegen die thixotropen Eigenschaften der einzelnen O/W-Cremes in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit an.

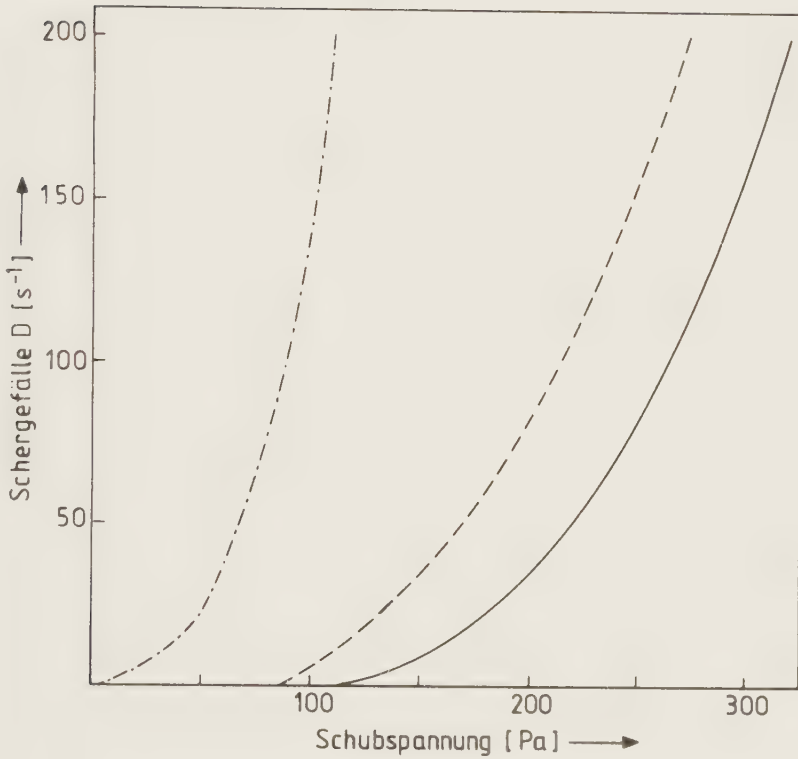


Abb. 53 Rheogramme wäßriger und alkoholisch-wäßriger Hydrogele mit der Wirkstoffkombination Beta-methason/Dimetindenmaleat

- Rezeptur E 1
- · - · - Rezeptur E 2
- - - - - Rezeptur E 3

Von den W/O-Zubereitungen konnten aufgrund ihrer hohen Viskosität mit dem vorliegenden Meßsystem keine Fließkurven aufgenommen werden.

Charge	Quasiviskositätswerte η_Q [mPa·s]			
	Untersuchungs- beginn	Lagerzeit 6 Monate		
		20°C	25°C	35°C
A 8	1618,0	1644,3	1661,8	1731,7
B 2	1425,6	1469,3	1469,3	1574,3
C 3	892,1	927,1	918,3	962,1
E 1	1600,5	1556,8	1574,3	1591,8
E 2	542,3	551,0	533,5	559,7
E 3	1373,4	1381,9	1364,4	1399,4

Tab. 33 Einfluß der Lagertemperatur auf die Quasiviskosität von O/W-Cremes und Hydrogelen mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat während sechsmonatiger Lagerung
 Schergefälle D: $199,7 \text{ [s}^{-1}\text{]}$ ($n = 256$)
 Meßtemperatur : $20^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$

6. Diskussion und Schlußfolgerung

Aus den Ergebnissen der Untersuchung einer Wirkstoffkombination aus Betamethason und Dimetindenmaleat in Propylenglykol/Wasser-Mischungen sowie in verschiedenen halbfesten Dermatika ergibt sich zusammenfassend, daß Stabilität und Abbau dieser Wirkstoffe unter den geprüften Bedingungen von folgenden Faktoren beeinflußt werden (Tabelle 34):

Einflußfaktoren	Betamethason	Dimetindenmaleat
erhöhte Lagertemperatur	- -	- - -
erhöhter pH-Wert [*]	- - -	-
Schwermetallverunreinigungen	- - -	-
peroxidische Verunreinigungen	- -	- -
(Luft-)Sauerstoff	- -	- -
Zusatz Komplexbildner	+ + +	+
Zusatz Redoxstabilisator	+	+ +
Zusatz Antioxidans ^{**}	+	+
Senkung Dielektrizitätskonstante		+ +

Tab. 34 Einflußfaktoren auf die Stabilität von Betamethason und Dimetindenmaleat in wasserhaltigen Dermatika

- geringe Stabilitätsminderung
- - Stabilitätsminderung
- - - sehr starke Stabilitätsminderung
- + geringe Stabilisierung
- + + Stabilisierung
- + + + sehr wirkungsvolle Stabilisierung

* betrifft Untersuchungen im pH-Bereich
zwischen 5,0 und 6,5

** abhängig von der Grundlage

Da die Lagertemperatur einen so wesentlichen Einfluß auf die Stabilität des Antihistaminikums zeigte, muß bei Herstellung dimetindenmaleathaltiger Dermatika streng darauf geachtet werden, daß die Substanz keiner Temperaturbelastung ausgesetzt wird. Eine Einarbeitung in Zweiphasensysteme, welche in der Hitze emulgiert werden, darf erst nach Abkühlung der Grundlage auf eine Temperatur unter 25°C erfolgen. Eine Schutzlagerung dieser Zubereitungen bei Temperaturen $\leq 20^{\circ}\text{C}$ scheint sinnvoll.

Zur Verbesserung der Lagerstabilität des Corticosteroids sollte bei Verarbeitung in Emulsionen der pH-Wert der Wasserphase nicht über pH 5,0 liegen. Es empfiehlt sich eine Pufferung der Wasserphase, da die Untersuchungen an ungepufferten O/W-Cremes gezeigt haben, daß der pH-Wert der Wasserphase in Abhängigkeit von Lagertemperatur und Lagerzeit Veränderungen unterliegt.

Das Antihistaminikum zeigte im untersuchten pH-Bereich keine wesentlichen Stabilitätsunterschiede. Der pH-Wert hat aber bei der zweisäurigen Base Dimetinden Einfluß auf den Ionisierungsgrad und damit auf den Verteilungskoeffizienten zwischen lipophiler und hydrophiler Phase. Durch Freisetzungsversuche bliebe hier zu klären, inwieweit der pH-Wert der Wasserphase Einfluß auf die Liberation des Antihistaminikums aus Emulsionsgrundlagen nimmt.

Schwermetallspuren katalysieren besonders den oxidativen Betamethasonabbau. Es muß daher bei der Wahl der Herstellungsgeräte sowie der Grund- und Hilfsstoffe darauf geachtet werden, daß keine Schwermetallverunreinigungen in die Zubereitungen gelangen. Weiterhin sollte, wie bei allen steroidhaltigen Dermatika, ein Komplexbildner zugesetzt werden.

Zur Vermeidung peroxidischer Verunreinigungen, die sich bei den vorliegenden Untersuchungen auf die Stabilität beider Arzneistoffe ausgewirkt haben, muß auf die Qualität bzw. das Alter lipophiler Grundstoffe geachtet werden. Wie eigene Untersuchungen an Hydrocortison und Betamethason-17-valerat gezeigt haben, können auch durch nichtionische O/W-Emulgatoren peroxidische Verunreinigungen in die Zubereitungen gelangen.

Sauerstoff besitzt einen wesentlichen Einfluß auf die Stabilität der beiden Arzneistoffe. Dies wurde schon bei Vorversuchen in Propylenglykol/Wasser-Mischungen deutlich und zeigte sich beim Vergleich der Wirkstoffstabilität in ohne und mit Ausschluß von Luftsauerstoff angefertigten O/W-Cremes. Im Hinblick auf die Lagerstabilität von Dermatika mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat ist folglich eine Herstellung im geschlossenen System immer anzustreben. Die Tatsache, daß mit Ausnahme des Komplexbildners zugesetzte Stabilisatoren bei sauerstofffreier Herstellung nach sechsmonatiger Lagerung bei Raumtemperatur für das Steroid keine wesentliche Verbesserung der Stabilität ergaben, ist darauf zurückzuführen, daß oxidative Abbaureaktionen schon durch Ausschluß von Luftsauerstoff zurückgedrängt wurden.

Zur Stabilisierung des Dimetindenmaleats in Dermatika empfiehlt sich auch bei Herstellung im geschlossenen System der Zusatz eines Redoxstabilisators.

Die Effektivität der Zugabe eines Antioxidans war in O/W-Cremes nicht groß; bei W/O-Zubereitungen empfiehlt sich ein solcher Stabilisator aber unbedingt.

Wie Untersuchungen an Propylenglykol/Wasser-Mischungen, O/W-Cremes und Hydrogelen zeigten, läßt sich die Stabilität von Dimetindenmaleat in diesen Zubereitungen durch Senkung der Dielektrizitätskonstante verbessern.

Für Betamethason ergab sich bei Erniedrigung der DK-Werte der Wasserphasen von O/W-Cremes keine Veränderung der Abbaurate. Eigene Untersuchungen an Hydrocortison hatten jedoch bei Anwesenheit von Luftsauerstoff eine Stabilitätsverbesserung dieses Steroids durch Senkung der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase von O/W-Emulsionen ergeben. Da die beschleunigte Steroidzersetzung in Medien höherer Polarität aber auf die größere Sauerstofflöslichkeit zurückgeführt wird (35), kann ein derartiger Einfluß bei sauerstofffreier Herstellung nicht zum Tragen kommen.

Eine Lösung des Betamethasons durch Zusatz von Methanol oder Isopropanol führte in den vorliegenden Untersuchungen jeweils zu einer Beschleunigung der Steroidzersetzung. Es ist daher

nicht statthaft, eine Senkung der Dielektrizitätskonstante zugunsten der Stabilität des Antihistaminikums durch Zusatz eines Stoffes vorzunehmen, der die Löslichkeit von Beta-methason wesentlich erhöht.

Bei Hydrogelen erwies sich eine Senkung des pH-Wertes durch Verminderung des Neutralisationsmittels stabilitätsfördernd. Dieser Maßnahme zur Stabilitätsverbesserung der Wirkstoffe in Polyacrylatgelen sind jedoch Grenzen gesetzt, da sie mit einem deutlichen Konsistenzverlust der Zubereitung verbunden ist.

Die Herstellung eines isopropanolischen Gels ist, wie schon erläutert, wegen der dadurch bedingten Instabilität des Steroids nachteilig.

Bei Verarbeitung von Dimetindenmaleat in Polyacrylatgele muß im schwach sauren pH-Bereich mit Wechselwirkungen zwischen dem teilweise protonierten Antihistaminikum und dem Gelbildner gerechnet werden, die wahrscheinlich zu einer Verminderung und möglicherweise auch zu einer Retardierung der Wirkstofffreisetzung führen. Wechselwirkungen zwischen Carbopol®-Gelen und den beiden Antihistaminika Diphenhydraminhydrochlorid und Dexchlorpheniraminmaleat sowie die damit verbundene Entstehung von Interaktionsprodukten konnten nachgewiesen werden (169). Ferner wurde in diesem Zusammenhang auch über eine Retardierung der Antihistaminika Mepyraminmaleat und Diphenhydraminhydrochlorid in Tablettenpräparaten berichtet (170,171).

THOMA und SIEMER (172) stellten bei Untersuchungen des Sorptionsverhaltens von Chlorphenoxaminhydrochlorid an Aerosil® die stärkste Bindung im neutralen bis schwach sauren pH-Bereich fest.

Ob eine Bindung und Freisetzungsverzögerung des Dimetindenmaleats aus Polyacrylatgelen nur unerwünschte oder auch positive Aspekte aufweist kann nur in vivo untersucht werden. Da das Antihistaminikum bei den vorliegenden Untersuchungen in Polyacrylatgelen eine bessere Stabilität als in Zweiphasensystemen aufwies, wird seine Zersetzungsgeschwindigkeit möglicherweise durch die Salzbildung mit Carbopol® vermindert.

Während die O/W-Cremes nach sechsmonatiger Lagerung organoleptisch keine Veränderungen zeigten, war eine der drei W/O-Salben bereits deutlich inhomogen. Dies ist wahrscheinlich auf die grenzflächenaktiven, hydrophilen Eigenschaften des Antihistaminikums zurückzuführen (173).

Aus den Untersuchungen zur Partikelgröße des suspendierten Steroids in Emulsionsgrundlagen ergab sich, daß das Risiko eines Kristallwachstums umso größer wird, je höher der Anteil der lipophilen Phase der Zubereitung ist. Verteilungsvorgänge des Corticosteroids zwischen hydrophiler und lipophiler Phase sind also wesentlich am Teilchenwachstum beteiligt.

Weiterhin zeigten diese Untersuchungen, daß der am Boden der Kleinprozeßanlage befindliche Homogenisator bei der Herstellung hochviskoser Emulsionen für eine optimale Wirkstoffverteilung ohne Agglomeratbildung nicht ausreichte.

IV. Entwicklung eines hochleistungsflüssigkeitschromatographischen Verfahrens zur Bestimmung von Antihistaminika und Corticosteroiden auf Kieselgel mit polaren Eluenten

Innerhalb der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie haben sich in den vergangenen Jahren reversed-phase-Verfahren zu einer weit verbreiteten Analysenmethode entwickelt. Am häufigsten werden dabei C_8 - und C_{18} -Phasen eingesetzt, welche unter Verwendung von Methanol/Wasser- oder Acetonitril/Wasser-Mischungen als Elutionsmittel die Trennung zahlreicher Substanzklassen ermöglichen.

Die Bestimmung amphiphiler und ionischer Stoffe auf reversed-phase-Säulen ist jedoch oftmals mit Schwierigkeiten verbunden (174-176). Bei der Herstellung von reversed-phase-Materialien aus Kieselgel durch Umsetzung mit Chlorsilanen gelingt aufgrund sterischer Hinderung niemals eine vollständige Silanierung aller Si-OH-Gruppen (174,177). Bedingt durch zurückbleibende freie Silanolgruppen können amphiphile und ionische Substanzen auf der Säule durch zwei verschiedene Adsorptionsmechanismen gebunden werden, da sowohl Wechselwirkungen mit den hydrophoben Alkylfunktionen als auch mit den polaren Silanolgruppen stattfinden (178).

Es ist bekannt, daß besonders Moleküle mit Aminfunktionen diesen Doppelmechanismus zeigen (179), der zu langen Retentionszeiten und schlechter Peaksymmetrie führt.

Wie eigene Untersuchungen zur Bestimmung des Antihistaminikums Dimetindenmaleat mittels reversed-phase-HPLC ergeben haben, lassen sich die freien Silanolgruppen durch Zusatz eines organischenamins und eines anorganischen Salzes zum Eluenten blockieren. Auf diese Weise kann eine rasche Retention des Antihistaminikums und eine befriedigende Peaksymmetrie erreicht werden.

Ähnliche Methoden zur Bestimmung trizyklischer Antidepressiva (174,175), Neuroleptika (175), quartärer Curare-Alkaloide (180) und anderer basischer Substanzen (181-183) unter Zusatz von Ammoniumsalzen, Aminen oder Phosphaten zum Eluenten sind beschrieben worden.

Eine weitere Methode zur Trennung von Säuren oder Basen auf reversed-phase-Materialien ist die Ionenpaarchromatographie, wobei der mobilen Phase langkettige, ionische Alkylderivate zugesetzt werden (184,185). Auch eine Ionenpaarchromatographie unter Zusatz von Amin zum Eluenten ist in der Literatur erwähnt (186).

Alle angeführten Verfahren zur Bestimmung ionischer oder amphiphiler Substanzen auf chemisch gebundenen, apolaren Phasen besitzen jedoch den Nachteil, daß sie in aller Regel keine Reproduzierbarkeit der Methode bei Verwendung gleichen Säulenmaterials verschiedener Hersteller ermöglichen. Oftmals läßt sich auch nur eine schlechte Reproduzierbarkeit bei Einsatz verschiedener Chargen gleichen Säulenmaterials eines Herstellers erzielen.

Durch unterschiedliche Silanierungsbedingungen bei der Herstellung stationärer Phasen mit kovalent gebundenen Alkylfunktionen verbleiben verschiedene Restgehalte zugänglicher OH-Gruppen (187). Dadurch verhalten sich reversed-phase-Säulen verschiedener Hersteller auch bei Zusatz von Aminen zum Eluenten in ihren Trennungseigenschaften unterschiedlich (174).

In jüngster Zeit wurden von mehreren Arbeitskreisen Analysemethoden auf reinem Kieselgel mit polaren wäßrigen (177,179, 188-192) und polaren wasserfreien (193) Eluenten zur Bestimmung ionischer und nichtionischer Substanzen entwickelt. Da in diesem Fall das Säulenmaterial nicht derivatisiert ist, lassen sich herstellungsbedingte Unterschiede im Trennverhalten praktisch ausschließen und eine gute Reproduzierbarkeit auch bei Verwendung stationärer Phasen verschiedener Hersteller erreichen (188).

Eine Bestimmung von Antihistaminika oder Corticosteroiden auf Kieselgel mit polaren Eluenten wurde bisher nicht beschrieben. Besonders die Chromatographie basischer Antihistaminika bereitet aber aufgrund der amphiphilen Eigenschaften dieser Arzneistoffe auf reversed-phase-Materialien Schwierigkeiten. Es war deshalb Ziel der vorliegenden Arbeit zu untersuchen, inwieweit eine Bestimmung und Trennung dieser Substanzen auf Kieselgel mit polarer mobiler Phase möglich ist und welche

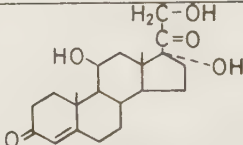
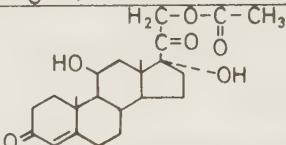
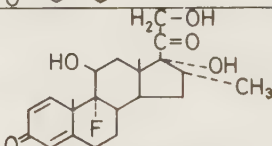
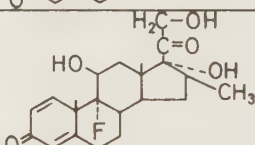
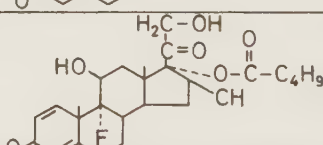
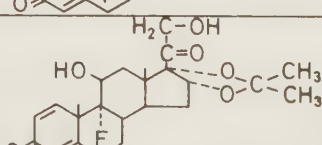
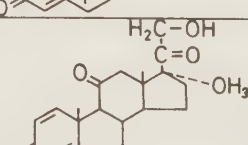
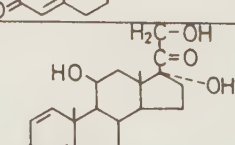
Vorteile eine solche Methode gegenüber herkömmlichen reversed-phase-Verfahren bietet.

Ausgehend von der Wirkstoffkombination Dimetindenmaleat/Beta-methason, deren quantitative HPLC-Bestimmung aufgrund von Stabilitätsuntersuchungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit von Interesse war, wurden weitere Antihistaminika und Corticosteroide in die Entwicklung des Analysenverfahrens einbezogen. Dadurch sollten eine breitere Anwendbarkeit der Methode erreicht und vergleichende Rückschlüsse von strukturellen Eigenschaften der Substanzen auf ihr chromatographisches Verhalten ermöglicht werden.

Tabelle 35 zeigt die Strukturformeln der untersuchten Antihistaminika, in Tabelle 36 sind die Strukturformeln der untersuchten Corticosteroide wiedergegeben.

Verbindung Mol.-Gew.	Struktur
Chloropyramin- hydrochlorid 326,27	
Diphenhydramin- hydrochlorid 291,83	
Chlorphenoxamin- hydrochlorid 340,31	
Pheniramin- maleat 356,42	
Chlorphenamin- maleat 390,87	
Brompheniramin- maleat 435,32	
Dimetinden- maleat 408,50	

Tab. 35 Übersicht der untersuchten Antihistaminika

Verbindung Mol.-Gew.	Struktur
Hydrocortison 362,46	
Hydrocortisonacetat 404,51	
Dexamethason 392,45	
Betamethason 392,45	
Betamethason-17-valerat 476,58	
Triamcinolon-acetonid 434,49	
Prednison 358,44	
Prednisolon 360,46	

Tab. 36 Übersicht der untersuchten Corticosteroide

1. Auswirkung verschiedener Einflußfaktoren auf die Trennleistung

Bei Verwendung einer mobilen Phase aus Acetonitril und Wasser ließen sich die Antihistaminika nicht von der Kieselgelsäule eluieren. Dieses Verhalten war zu erwarten, da die amphiphilen Substanzen aufgrund ihrer polaren Aminfunktionen an die Silanolgruppen der stationären Phase adsorbiert werden.

Unter gleichen Bedingungen wurden die Corticosteroide mit relativ geringen Retentionsvolumina eluiert. Dabei nahmen die Retentionszeiten mit Erhöhung des Wassergehaltes der mobilen Phase zunächst ab; bei weiter zunehmendem Wasseranteil stiegen sie wieder. Hier lag demnach ein Wechsel von "normal-phase-" zu "reversed-phase-Eigenschaften" vor.

In Tabelle 37 sind die zugehörigen Kapazitätsfaktoren in Abhängigkeit vom Acetonitril/Wasser-Mischungsverhältnis des Eluenten angegeben. Wie die Werte zeigen, wurden die Steroidester unter allen Bedingungen vor den Steroidalkoholen eluiert. Dies steht im Gegensatz zu C₈- oder C₁₈-Materialien.

Corticosteroid	Zusammensetzung der mobilen Phase		
	80 T ACN/ 20 T H ₂ O	64 T ACN/ 36 T H ₂ O	40 T ACN/ 60 T H ₂ O
Hydrocortison	1,27	1,07	1,22
Hydrocortisonacetat	1,00	0,86	1,11
Dexamethason	1,13	0,95	1,18
Betamethason	1,18	0,98	1,26
Betamethason-17-valerat	0,93	0,78	1,09
Triamcinolonacetonid	1,09	0,91	1,16
Prednison	1,29	1,09	1,31
Prednisolon	1,31	1,07	1,24

Tab. 37 Kapazitätsfaktoren (k'-Werte) verschiedener Corticosteroide in Abhängigkeit des Acetonitril/Wasser-Mischungsverhältnisses der mobilen Phase (Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 µ; Mobile Phase: Acetonitril/Wasser)

Bei Zugabe organischer Amine zum Eluenten ließen sich im sauren bis neutralen pH-Bereich auch die Antihistaminika auf Kieselgel chromatographieren.

Durch Variation des Aminzusatzes und des pH-Wertes der mobilen Phase sowie durch Zugabe eines anorganischen Salzes zum Eluenten wurden gute Trennungen der Antihistaminika untereinander ermöglicht. Ebenso ließen sich Bestimmungen von Antihistaminika neben Corticosteroiden durchführen.

1.1 Einfluß des Aminzusatzes

Bei Anwesenheit eines organischen Amins in der mobilen Phase ist damit zu rechnen, daß diese Substanz an die Silanolgruppen der stationären Phase adsorbiert wird. Es besteht mithin eine Konkurrenz zwischen dem Amin und den Aminfunktionen der Antihistaminika um die Bindung an das Kieselgel.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde dem Eluenten zunächst Dibutylamin zugesetzt. Durch diese Maßnahme gelang es, alle untersuchten Antihistaminika von der Säule zu eluieren.

Um abzuklären, inwieweit die Retention der chromatographierten Substanzen von der Struktur des zugesetzten Amins abhängig ist, wurden vergleichende Untersuchungen mit Octylamin und 2-Morpholinoethylamin vorgenommen.

Wie aus Tabelle 38 hervorgeht, ergaben sich für die Antihistaminika in Abhängigkeit des Aminzusatzes zum Fließmittel sehr unterschiedliche Kapazitätsfaktoren. Die Retentionszeiten nahmen in der Reihenfolge Dibutylamin > Octylamin > 2-Morpholinoethylamin ab. Chlorphenoxamin und Diphenhydramin wurden mit jedem Fließmittelsystem an erster und zweiter Stelle eluiert; Pheniramin und Dimetinden besaßen die höchsten Retentionsvolumina. Die Reihenfolge der Elution von Chlorphenamin und Brompheniramin änderte sich mit Wechsel des Aminzusatzes.

Wie aus Tabelle 38 weiterhin hervorgeht, wurden die Retentionen der untersuchten Corticosteroide vergleichsweise wenig von der Struktur des Amins im Eluenten beeinflusst. Insgesamt

Arzneistoff	Aminzusatz		
	Dibutyl-amin	Octyl-amin	2-Morpholino-ethylamin
Chloropyramin	13,33	7,58	3,30
Diphenhydramin	10,50	5,22	2,92
Chlorphenoxamin	9,96	4,93	2,66
Pheniramin	14,97	12,05	4,56
Chlorphenamin	12,77	9,72	3,68
Brompheniramin	11,50	9,43	4,00
Dimetinden	19,92	15,93	5,41
Hydrocortison	1,00	1,05	1,08
Hydrocortisonacetat	0,90	0,98	0,93
Dexamethason	0,92	0,98	0,93
Betamethason	0,92	1,00	0,95
Betamethason-17-valerat	0,83	0,92	0,81
Triamcinolonacetonid	0,92	1,00	1,00
Prednison	1,02	1,07	1,13
Prednisolon	1,00	1,05	1,13

Tab. 38 Kapazitätsfaktoren (k' -Werte) verschiedener Antihistaminika und Corticosteroide in Abhängigkeit des Aminzusatzes zur mobilen Phase
(Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 μ ; Mobile Phase: Acetonitril 64 T, Wasser pH 3 (H_3PO_4) 36 T, Amin 7,2 mmol)

zeigte sich jedoch eine gegenteilige Tendenz, da bei Verwendung von Dibutylamin kürzere Retentionszeiten erzielt wurden als bei Zugabe von Octylamin oder 2-Morpholinoethylamin.

Bei Erhöhung des Wassergehaltes der mobilen Phase nahmen die Retentionsvolumina der Antihistaminika zu; die Peaksymmetrie

verschlechterte sich. Wurden dagegen Wassergehalt und Aminkonzentration gleichzeitig linear erhöht, überwog in einem weiten Bereich die Auswirkung des Aminzusatzes, d.h. die Retentionszeiten der Antihistaminika wurden etwas verkürzt.

Die Kapazitätsfaktoren der Corticosteroide nahmen unabhängig von der Aminkonzentration bei Steigerung des Wassergehaltes der mobilen Phase zu.

Abbildung 54 zeigt die Chromatogramme einer Wirkstoffkombination aus Betamethason und verschiedenen Antihistaminika bei Zusatz von Octylamin zum Eluenten. Durch Erhöhung des Wassergehaltes und der Aminkonzentration (Abb. 54 B) wurde die Analysenzeit zwar etwas verkürzt, Chloropyramin und Chlorphenamin ließen sich jedoch dann nicht mehr so gut trennen. Für das Steroid und Chlorphenoxamin ergaben sich in beiden Chromatogrammen symmetrische Peaks. Mit zunehmender Retentionszeit wurde die Peaksymmetrie dagegen schlechter; Dimetinden zeigte ein ausgeprägtes Tailing.

In weiteren Versuchen wurde die stationäre Phase zunächst mit 250 ml einer einprozentigen Lösung von Dibutylamin in Acetonitril/Wasser (3:1) gespült. Anschließend erfolgte die Chromatographie der Antihistaminika bzw. Corticosteroide wiederum unter Zusatz von Dibutylamin zum Eluenten.

Ziel dieser Untersuchungen war es festzustellen, inwieweit eine der Chromatographie vorgeschaltete "Belegung" der Silanolgruppen des Kieselgels mit Amin Einfluß auf die Retentionszeiten der untersuchten Arzneistoffe nimmt.

Wie aus Abbildung 55 hervorgeht, wurden die Kapazitätsfaktoren der Antihistaminika durch die Vorbehandlung der Säule deutlich verringert. Der Einfluß zeigte sich bei allen amphiphilen Substanzen; er war jedoch bei Chloropyramin, Diphenhydramin und Chlorphenoxamin stärker ausgeprägt als bei den übrigen Antihistaminika.

Auf die Elutionszeiten der Corticosteroide hatte die zusätzliche Aminbelegung der Säule keine wesentlichen Auswirkungen.

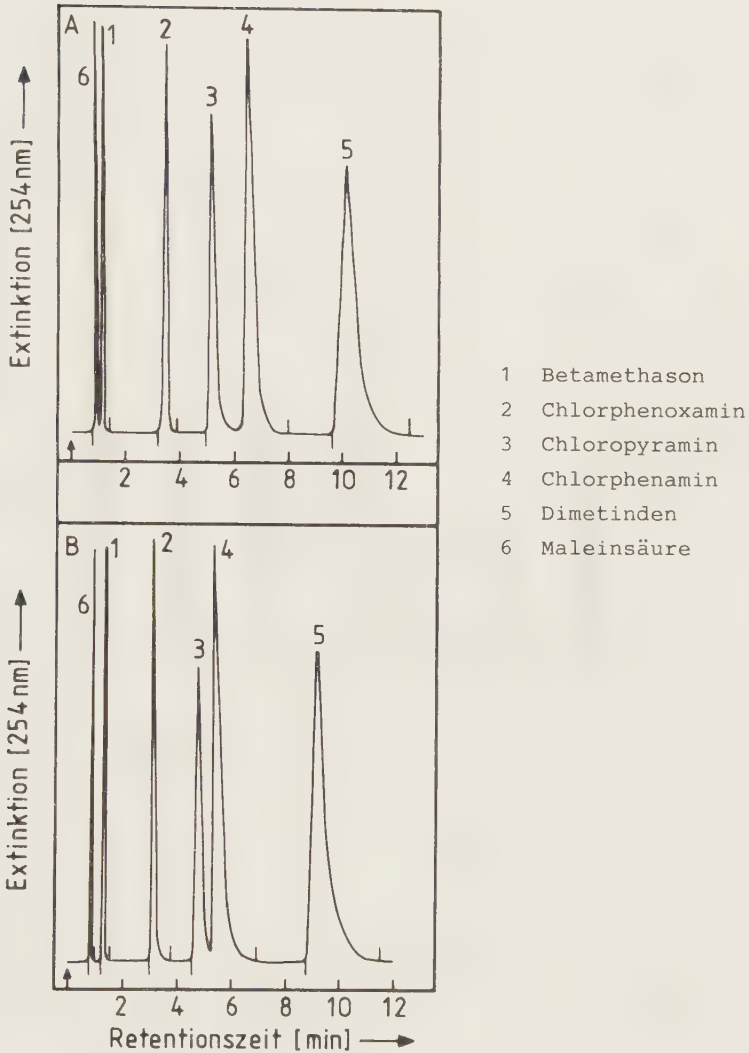


Abb. 54 HPLC-Bestimmung eines Corticosteroids und verschiedener Antihistaminika auf Kieselgel mit polaren Eluenten
(Stationäre Phase: Radial Pak Si, 10 μ ; Mobile Phase: A: Acetonitril 64 T, Wasser pH 3,0 (H_3PO_4) 36 T, Octylamin 7,2 mmol; B: Acetonitril 42 T, Wasser pH 3,0 (H_3PO_4) 58 T, Octylamin 11,6 mmol; Durchfluß: 3 ml/min)

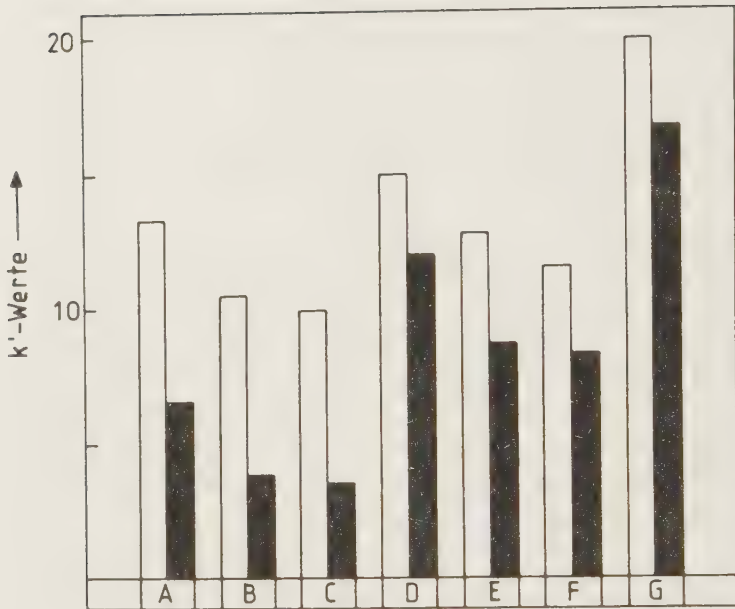


Abb. 55 Vergleich der Kapazitätsfaktoren verschiedener Antihistaminika bei Trennung auf aminbelegten und unbelegten Kieselgelsäulen
(Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 μ ; Mobile Phase: Acetonitril 64 T, Wasser pH 3,0 (H_3PO_4) 36 T, Dibutylamin 7,2 mmol)

□ Säule unbehandelt
■ Säule mit Dibutylamin belegt

A Chloropyramin	E Chlorphenamin
B Diphenhydramin	F Brompheniramin
C Chlorphenoxamin	G Dimetinden
D Pheniramin	

Abbildung 56 zeigt die Chromatogramme der Bestimmung einer Wirkstoffkombination aus drei Antihistaminika auf unbehandelter stationärer Phase (Abb. 56 A) sowie nach vorheriger Belegung des Kieselgels mit Dibutylamin (Abb. 56 B). Während im

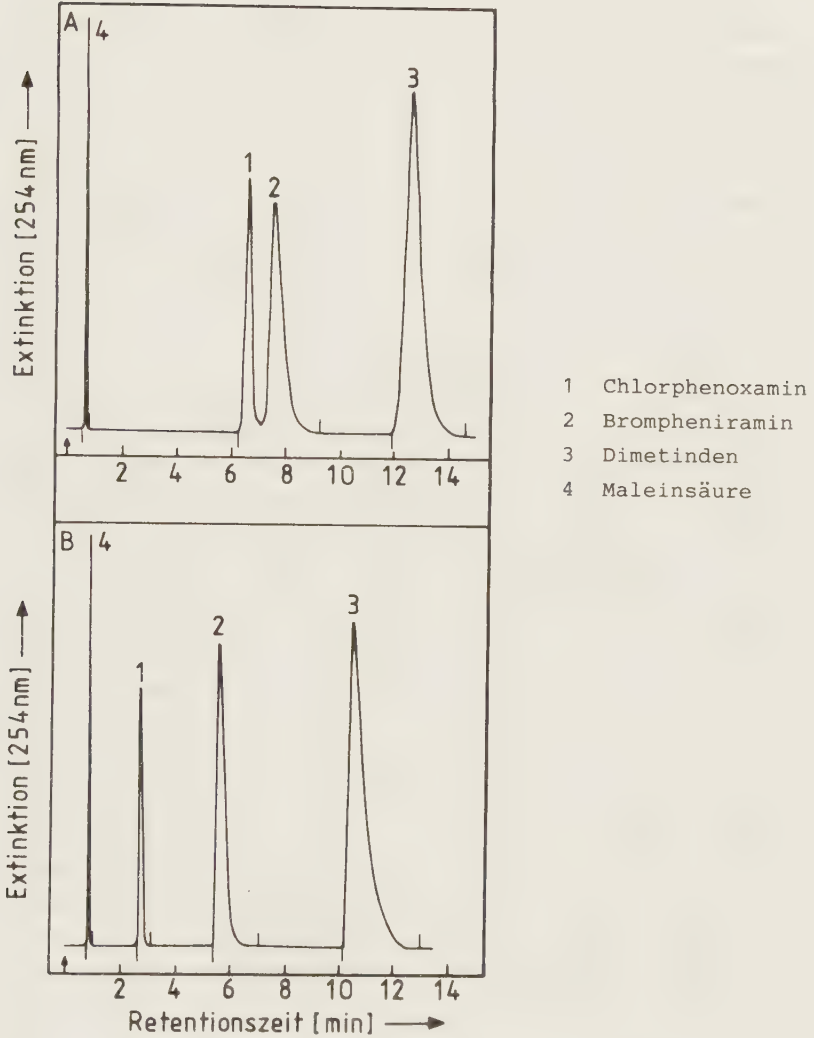


Abb. 56 HPLC-Bestimmung verschiedener Antihistaminika auf Kieselgel mit polaren Eluenten
(Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 μ ; Mobile Phase: Acetonitril 64 T, Wasser pH 3,0 (H_3PO_4) 36 T, Dibutylamin 7,2 mmol; Durchfluß: 3 ml/min)

A Säule unbehandelt
B Säule mit Dibutylamin belegt

ersten Fall Chlorphenoxamin und Brompheniramin weniger gut getrennt wurden, ließ sich durch Vorbehandlung der Säule eine vollständige Trennung der drei Substanzen bei hoher Auflösung erreichen. Durch Steigerung des Durchflusses konnte diese Bestimmung auf eine relativ niedrige Analysenzeit verkürzt werden. Die mit zunehmender Retentionszeit auftretenden unsymmetrischen Peakformen ließen sich dagegen auf diese Weise nicht völlig verhindern.

1.2 Einfluß eines Salzzusatzes

Es ist bekannt, daß durch Zugabe von Elektrolyten zur mobilen Phase die Retention basischer Substanzen bei der Chromatographie auf reversed-phase-Säulen verkürzt und die Peaksymmetrie dabei verbessert werden kann (180,194).

Da die untersuchten Antihistaminika bei Bestimmung auf Kieselgel ebenfalls ein verstärktes Peaktailing zeigten, wurde untersucht, inwieweit sich diese Erscheinung durch Zusatz eines anorganischen Salzes zum Eluenten unterbinden läßt.

Wie aus Tabelle 39 hervorgeht, bewirkte die Zugabe von 10 mmol Dikaliumhydrogenphosphat bei sonst unveränderter mobiler Phase eine sehr deutliche Abnahme der Kapazitätsfaktoren der Antihistaminika.

Der Einfluß des Salzes war bei Verwendung von Dibutylamin ebenso wie bei Octylamin gleichermaßen vorhanden. Insgesamt ergaben sich aber in jedem Fall die kürzeren Retentionszeiten für die Antihistaminika bei Gegenwart von Octylamin im Eluenten.

Auf die Retention der Corticosteroide, die auch ohne Elektrolytzusatz rasch von der Säule eluiert wurden, wirkte sich die Salzzugabe vergleichsweise gering aus.

Aus Abbildung 57 ist der Einfluß des anorganischen Salzes auf die Trennung verschiedener Wirkstoffkombinationen aus Corticosteroid und Antihistaminikum ersichtlich. Die Gesamtanalysenzeiten ließen sich durch Zugabe von Dikaliumhydrogenphosphat zum Eluenten in jedem Fall wesentlich verkürzen. Es

Arzneistoff	Eluent mit Dibutylamin		Eluent mit Octylamin	
	ohne Salz	Salzzusatz	ohne Salz	Salzzusatz
Chloropyramin	16,16	7,15	8,60	4,30
Diphenhydramin	11,63	4,85	7,16	3,65
Chlorphenoxamin	10,95	4,12	6,67	3,42
Pheniramin	19,21	9,13	13,55	6,30
Chlorphenamin	15,85	6,58	12,33	5,60
Brompheniramin	14,88	6,02	10,77	5,50
Dimetinden	17,42	6,82	12,10	5,83
Hydrocortison	0,98	0,90	1,03	0,95
Hydrocortisonacetat	0,90	0,85	0,97	0,87
Dexamethason	0,92	0,89	0,97	0,90
Betamethason	0,92	0,89	0,98	0,90
Betamethason-17-valerat	0,83	0,82	0,92	0,82
Triamcinolonacetonid	0,92	0,87	0,98	0,90
Prednison	1,02	0,95	1,05	0,97
Prednisolon	1,00	0,90	1,03	0,90

Tab. 39 Kapazitätsfaktoren (k' -Werte) von Antihistaminika und Corticosteroiden in Abhängigkeit eines Salzzusatzes zur mobilen Phase

(Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 μ ; Mobile Phase: Acetonitril 64 T, Wasser pH 5,0 (H_3PO_4) 36 T, Amin 7,2 mmol, ggf. 10 mmol K_2HPO_4)

ergaben sich für alle Antihistaminika symmetrische Peaks. Die in Abbildung 57 gewählten Wirkstoffpaare entsprechen bei I und III Kombinationspräparaten aus der Roten Liste.

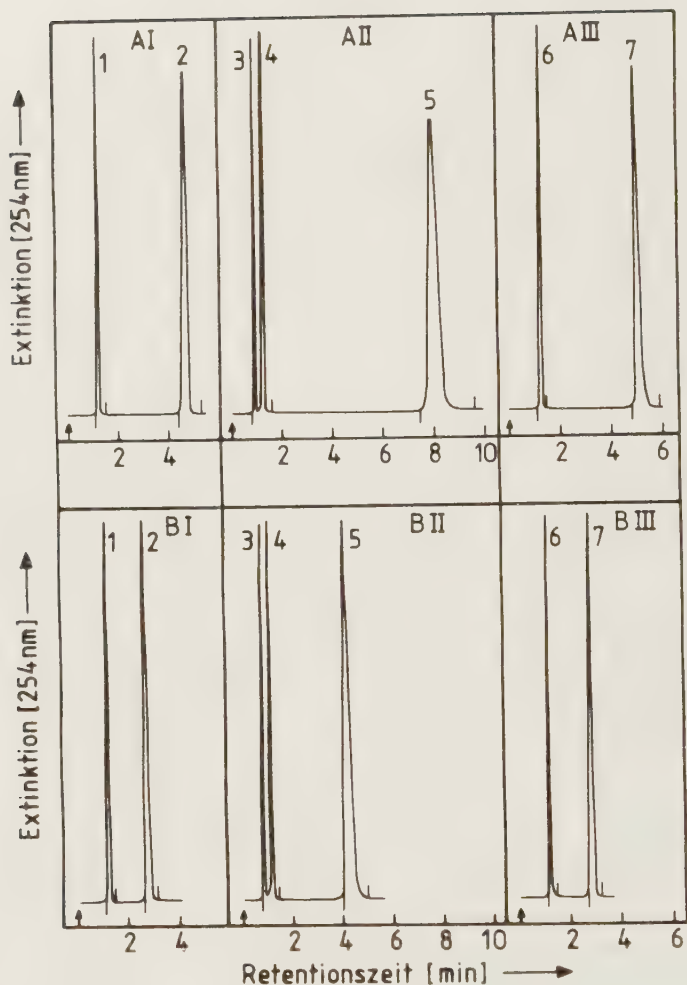


Abb. 57 HPLC-Bestimmung von Antihistaminika und Corticosteroiden auf Kieselgel mit polaren Eluenten in Abhängigkeit vom Elektrolytzusatz
 (Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 μ ; Mobile Phase: A: Acetonitril 64 T; Wasser pH 5,0 (H_3PO_4) 36 T, Octylamin 7,2 mmol; B: zusätzlich 10 mmol K_2HPO_4 ; Durchfluß: 3 ml/min)
 AI/BI Hydrocortisonacetat (1) und Chlorphenoxamin (2)
 AII/BII Betamethason (4) und Dimetinden (5); 3 Maleinsäure
 AIII/BIII Dexamethason (6) und Diphenhydramin (7)

1.3 Einfluß des pH-Wertes

Um den Einfluß des pH-Wertes der mobilen Phase auf das chromatographische Verhalten der untersuchten Substanzen abzuklären, wurde der mit Amin und ggf. mit Dikaliumhydrogenphosphat versetzte Wasseranteil des Eluenten mit Phosphorsäure auf pH 3,0, 5,0 und 7,0 eingestellt.

Wie Abbildung 58 am Beispiel des octylaminhaltigen Eluenten zeigt, ergaben sich für die Antihistaminika mit zunehmendem pH-Wert steigende Retentionszeiten. Dimetindenmaleat bildete dabei eine Ausnahme; diese Substanz wurde bei pH 5,0 schneller eluiert als bei pH 3,0. Die Zunahme der Kapazitätsfaktoren war bei Übergang von pH 3,0 auf 5,0 wesentlich geringer als bei weiterer Erhöhung des pH-Wertes in den Neutralbereich.

Bei Zusatz von Dibutylamin oder 2-Morpholinoethylamin zum Eluenten ergab sich eine vergleichbare pH-Abhängigkeit der Retentionsvolumina. Einige Antihistaminika ließen sich mit dibutylaminhaltiger mobiler Phase bei pH 7,0 nicht mehr von der Säule eluieren. In Gegenwart von 2-Morpholinoethylamin lagen die Retentionszeiten zwar auch bei pH 7,0 unter denjenigen der Bestimmung mit Octylamin; insgesamt ergaben sich bei diesem pH-Wert jedoch in jedem Fall sehr hohe Analysenzeiten. Die zugehörigen Peaks zeigten im Chromatogramm ein starkes Tailing, das auch durch vorherige Belegung der Säule mit Amin nur wenig verbessert wurde.

Bei Zugabe von Dikaliumhydrogenphosphat zum Eluenten ließen sich bei pH 3,0 und 5,0 in Gegenwart aller Amine gute k' -Werte der Antihistaminika erreichen. In Anwesenheit des Salzes war der Einfluß des pH-Wertes auf die Retentionszeiten geringer als ohne Elektrolytzusatz. So ließ sich in diesem Fall auch bei pH 7,0 mit dibutylaminhaltiger mobiler Phase eine Elution aller Antihistaminika erreichen. Dennoch waren auch in Gegenwart von Dikaliumhydrogenphosphat bei pH 7,0 die Retentionsvolumina sowie die Symmetrie der Peaks unbefriedigend.

Bei den Corticosteroiden war zwischen pH 3,0 und 5,0 nur eine geringfügige Steigerung der Retentionszeiten zu verzeichnen. Bei Übergang auf pH 7,0 war die Zunahme etwas größer, es er-

gaben sich aber in jedem Fall schnelle Analysenzeiten. Unter allen Bedingungen wurden die Steroidester vor den Steroidalkoholen eluiert.

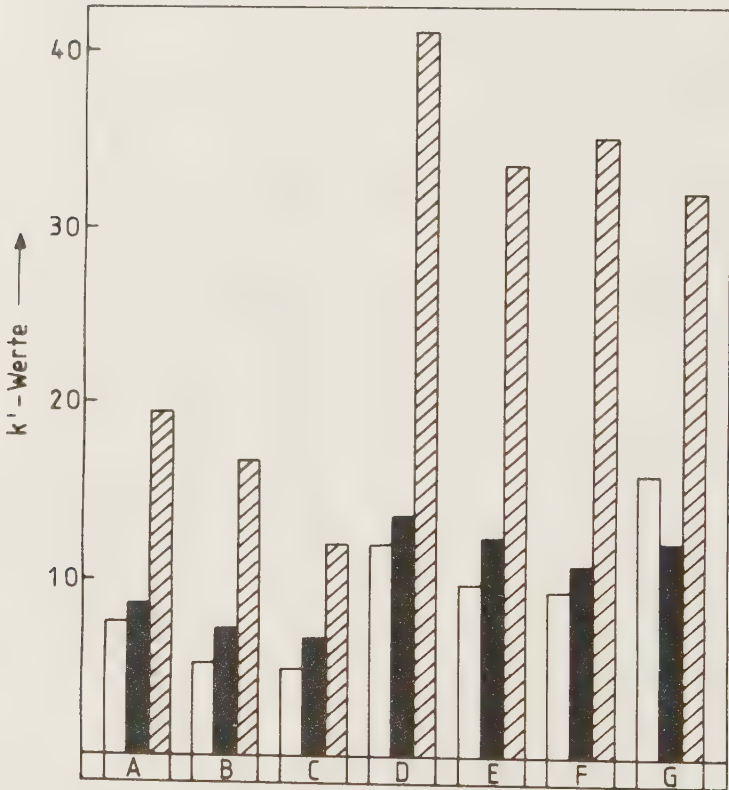


Abb. 58 Kapazitätsfaktoren verschiedener Antihistaminika in Abhängigkeit vom pH-Wert des Wassers der mobilen Phase

(Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 μ ; Mobile Phase: Acetonitril 64 T, Wasser (H_3PO_4) 36 T, Octylamin 7,2 mmol)

□ pH 3,0 ■ pH 5,0 ▨ pH 7,0

A Chloropyramin

E Chlorphenamin

B Diphenhydramin

F Brompheniramin

C Chlorphenoxamin

G Dimetinden

D Pheniramin

2. Diskussion und Schlußfolgerung

Wie die vorliegenden Untersuchungen gezeigt haben, lassen sich durch Zugabe organischer Amine zur mobilen Phase gute Trennungen basischer Antihistaminika und nichtionischer Corticosteroide auf Kieselgelsäulen mit polaren, wäßrigen Eluenten erzielen.

Das chromatographische Verhalten läßt sich dabei in bezug auf die untersuchten Antihistaminika mit chemisch gebundenen, apolaren stationären Phasen vergleichen, das System zeigt bei der Trennung der basischen Substanzen "reversed-phase-Eigenschaften".

Mit abnehmender Polarität der Antihistaminika wurden die zugehörigen Kapazitätsfaktoren größer, und es ließ sich diese Reihenfolge steigender Retentionszeiten ermitteln:

Ethanolaminderivate < Ethylendiaminderivate < Propylaminderivate

Die Ethanolaminderivate besitzen ebenso wie das Ethylendiaminderivat Chloropyramin mit dem Ethersauerstoff bzw. dem tertiären Stickstoff in der Seitenkette eine weitere polare Gruppe. Der Ethersauerstoff ist dabei elektronegativer als der tertiäre Stickstoff, weshalb die Ethanolaminderivate schneller eluiert wurden. Innerhalb der Gruppe der Ethanolamine besitzt Chlorphenoxamin die höhere Polarität, da der Chlorsubstituent am Phenylrest über einen induktiven Effekt die negative Ladung am Ethersauerstoff erhöht. Diese Substanz wurde unter allen Bedingungen an erster Stelle eluiert.

Für die Propylaminderivate, die keine zusätzliche polare Gruppe in der Seitenkette besitzen, ergaben sich höhere Retentionszeiten. Innerhalb dieser Substanzgruppe wirkte sich ebenfalls eine Substitution von Brom oder Chlor am Phenylrest beschleunigend auf die Elution aus. Die höchsten Retentionszeiten ergaben sich für das unsubstituierte Propylaminderivat Pheniramin und das ebenfalls unsubstituierte Dimetinden.

In bezug auf die nichtionischen Corticosteroide zeigte das System keine typischen "reversed-phase-Eigenschaften", da die weniger polaren Steroidester vor den Steroidalkoholen eluiert wurden. Andererseits bewirkte die Erhöhung des Wassergehaltes

der mobilen Phase in Gegenwart der Amine eine Verlängerung der Retentionszeiten. Das Verhalten wenig polarer Stoffe auf derartigen Trennsystemen bedarf noch weiterer Untersuchung. In jedem Fall sind die Wechselwirkungen dieser Verbindungen mit der modifizierten, stationären Phase geringer.

Bei Vorbehandlung der Kieselgelsäulen durch Belegung mit einem organischen Amin nahmen die Retentionszeiten der Antihistaminika deutlich ab. Da eine Konkurrenz der Aminmoleküle mit den Antihistaminika um die Bindung an die Silanolgruppen des Kieselgels besteht, wird offensichtlich durch eine vorgeschaltete Blockierung von Si-OH-Gruppen die Bindungsmöglichkeit der Antihistaminika stärker herabgesetzt als bei gleichzeitiger Anwesenheit der Substanzen im Eluenten. Geht man von der Modellvorstellung einer monomolekular adsorbierten Schicht von Aminmolekülen am Kieselgel aus, so sind die hydrophoben Reste des organischen Amins von der Kieselgeloberfläche weggerichtet und es entsteht ein apolarer Film auf der Säule, der die Eigenschaft chemisch gebundener reversed-phase-Materialien zeigt. Bei der Chromatographie findet dann nur eine Verteilung zwischen der lipophilen stationären Phase und dem hydrophilen Eluenten statt; Wechselwirkungen mit den Silanolgruppen treten nicht mehr auf.

Da die untersuchten Antihistaminika jedoch auch bei Vorbehandlung der Säule mit Amin ein gewisses Tailing zeigten, muß davon ausgegangen werden, daß nicht alle Silanolgruppen des Kieselgels blockiert werden. Die Affinität eines organischen Amins zu den Si-OH-Gruppen der stationären Phase wird sicherlich von seiner Basizität beeinflusst. Auch sterische Effekte können bei der Belegung von Kieselgel mit langkettigen Aminen eine Rolle spielen.

Weiterhin wirkten sich bei den vorliegenden Untersuchungen die strukturell verschiedenen Amine unterschiedlich auf die Retention der Antihistaminika aus. So ist die Struktur des lipophilen Aminrestes entscheidend für die Wechselwirkungen mit den chromatographierten Substanzen verantwortlich. Bemerkenswert scheint das Ergebnis, daß bei Zugabe von 2-Morpholinoethylamin zum Eluenten raschere Retentionen erzielt wur-

den als bei den anderen untersuchten Aminzusätzen. Diese Substanz enthält im lipophilen Rest polare Gruppen, die mit den Aminfunktionen der Antihistaminika in Wechselwirkung treten können.

Durch Zugabe eines anorganischen Salzes zum Eluenten ließen sich die Wechselwirkungen der Antihistaminika mit den restlichen freien Silanolgruppen minimieren. Diese Maßnahme bewirkte eine deutliche Verkürzung der Retentionszeiten verbunden mit einer verbesserten Peaksymmetrie. Über elektrostatische Wechselwirkungen wird dabei offensichtlich ein möglicher Ionenaustausch unterdrückt.

Bei Erhöhung des pH-Wertes der mobilen Phase nahmen die Kapazitätsfaktoren der Antihistaminika zu. Dies ist im wesentlichen auf den steigenden Dissoziationsgrad des Kieselgels bei Erhöhung des pH-Wertes im Bereich zwischen pH 3 und 7 zurückzuführen, da Kieselgel ungefähr einen pKa-Wert von 7 besitzt (195).

Freie Silanolgruppen liegen demnach bei pH 7 zur Hälfte dissoziiert vor und können kationische Substanzen verstärkt binden. Dies führte bei den vorliegenden Untersuchungen dazu, daß bei pH 7,0 trotz Amin- und Salzzusatz die Antihistaminika sehr schlecht von der Säule eluiert wurden.

Dem zunehmenden Dissoziationsgrad des Kieselgels mit steigendem pH-Wert wirkt jedoch eine abnehmende Dissoziation der basischen Antihistaminika entgegen. Es besteht demzufolge ein Zusammenhang zwischen den pKa-Werten der Antihistaminika und der Zunahme ihrer Retentionsvolumina bei pH 7,0. So war z.B. bei den vorliegenden Untersuchungen die Erhöhung des k' -Wertes von Pheniramin, das in wäßriger Lösung einen pKa-Wert von 9,27 (196) besitzt, größer als bei Chlorphenamin mit pKa 8,99 (196). Das unsubstituierte Propylaminderivat liegt bei pH 7,0 zu einem größeren Anteil protoniert vor als die chloresubstituierte Verbindung und wird deshalb vergleichsweise stärker reteniert.

Die Retentionszeiten basischer Substanzen werden folglich entscheidend vom pH-Wert des Eluenten, d.h. von ihrem Disso-

ziationsgrad, dem des zugesetzten Amins und dem des Kieselgels bestimmt. Die Retention nichtionischer Substanzen, wie z.B. Corticosteroide, ist dagegen vom pH-Wert der mobilen Phase weitgehend unabhängig.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß der Anwendungsbereich von Kieselgel in der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie durch Verwendung polarer, wäßriger Eluenten unter Zusatz organischer Amine erweitert werden kann. Auf diesem System lassen sich z.B. basische, amphiphile Verbindungen wie Antihistaminika und nichtionische, wenig polare Stoffe wie Corticosteroide trennen und bestimmen. Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß sich die Methode ebenfalls sehr gut zur Chromatographie quartärer Ammoniumverbindungen wie Benzalkoniumchlorid eignet.

Die Ergebnisse machen gleichzeitig deutlich, daß es zur exakten Erklärung der in einem solchen System auftretenden chromatographischen Vorgänge noch weiterer Entwicklungen und theoretischer Überlegungen bedarf. Die bisher abgeklärten Möglichkeiten eines solchen Verfahrens scheinen Anlaß zu geben, die allgemein üblichen Definitionen und Unterscheidungen von "normal-phase"- und "reversed-phase-Chromatographie" neu zu überdenken.

Die qualitative und quantitative Analyse auf mit Amin modifiziertem Kieselgel ist nicht aufwendiger als bei Verwendung chemisch gebundener reversed-phase-Materialien. Die Methode ist jedoch aufgrund des billigeren Säulenmaterials erheblich kostengünstiger.

Ein großer Vorteil des Verfahrens liegt in seiner guten Reproduzierbarkeit. Bei Verwendung von Kieselgel als stationäre Phase ist es möglich, HPLC-Trennungen unabhängig vom Hersteller des Säulenmaterials zu standardisieren. HANSEN und Mitarbeiter (190) verwendeten 14 Kieselgelsäulen verschiedener Hersteller zur Trennung eines Substanzgemisches. Für 13 Säulen ermittelten sie dabei praktisch identische k' -Werte der chromatographierten Verbindungen. Eigene Untersuchungen ergaben eine vollkommene Reproduzierbarkeit der Chromatogramme

bei Wiederholung der Bestimmung nach einem Jahr auf einer neuen Säule des gleichen Herstellers.

Ein ebenfalls nicht zu vernachlässigender Vorteil der beschriebenen Methode ist die lange Lebensdauer der Kieselgelsäulen bei Verwendung polarer Eluenten. Bei den vorliegenden Untersuchungen ließ sich im Vergleich zu chemisch gebundenen reversed-phase-Materialien eine wesentlich höhere Analysenzahl bei gleichbleibenden k' -Werten erreichen. Auch vorhandene Säulen konnten durch gründliches Spülen mit Wasser von pH 3 (H_3PO_4) wieder vollständig vom Amin befreit und weiterverwendet werden.

C. Experimenteller Teil

I. Hochleistungsflüssigkeitschromatographische Bestimmungen

1. Geräte und Materialien

HPLC-Analysensystem

Fa. Waters Inc., Milford, U.S.A., bestehend aus zwei Hochdruckpumpen M 6000 A, der Steuerungseinheit System Controller M 720, dem automatischen Probeneinspritzsystem Wisp 710 B, dem Schreiber und Integrator Data Module M 730, dem UV-Festwellenlängendetektor M 441 sowie dem Radial Compressions-system RCM 100.

Ultraschallbad Sonorex AK 510, Fa. Bandelin, Berlin

Filtrationseinheit

Ganzglasfiltrationsgerät, Fa. Millipore, Bedford, U.S.A.
PTFE Membranfilter 0,5 μ , Typ FH, Fa. Millipore, Bedford, U.S.A.
Cellulosenitrat-Membranfilter 0,2 μ , Fa. Sartorius, Göttingen

Stationäre Phasen

Radial-Pak C₁₈ (reversed-phase) Länge 10 cm, ID 8 mm, 10 μ -Material

Radial-Pak CN (Nitril-Phase), Länge 10 cm, ID 5 mm, 10 μ -Material

Radial-Pak CN (Nitril-Phase), Länge 10 cm, ID 8 mm, 10 μ -Material

Radial-Pak Si (Kieselgel), Länge 10 cm, ID 8 mm, 10 μ -Material

sowie Vorsäulen Guard-Pak C₁₈, CN und Si

der Fa. Waters Inc., Milford, U.S.A.

Mobile Phasen

Acetonitril LiChrosolv[®], Fa. Merck, Darmstadt

ChromAR[®], Fa. Promochem, Wesel und

"Baker Analyzed HPLC Reagent", Fa. Baker, Deventer, NL

Methanol LiChrosolv[®], Fa. Merck, Darmstadt und

"Baker Analyzed HPLC Reagent", Fa. Baker, Deventer, NL

Radial-Pak Reagenz D-4, Fa. Waters Inc., Milford, U.S.A.

Diisopropylether p.a., Fa. Merck, Darmstadt

ortho-Phosphorsäure p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Dikaliumhydrogenphosphat wasserfrei p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat wasserfrei p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Dibutylamin p.a., Fa. Sigma, St. Louis, U.S.A.
Octylamin puriss., Fa. Fluka, Buchs, CH
2-Morpholinoethylamin puriss., Fa. Fluka, Buchs, CH

Arzneistoffe

Betamethason⁺, mikronisiert, Nr. 35-10106/83, Fa. Zyma, München
und Nr. 072479, Fa. Byk-Essex, München

Betamethason-17-valerat⁺, mikronisiert, Nr. DOH-4-T-41, Fa.
Byk-Essex, München

Betamethason-21-valerat, mikronisiert, Fa. Synochem, Hamburg
Dexamethason⁺, mikronisiert, Nr. 17021299, Fa. Schering, Berlin
Hydrocortison, Ph.Eur., mikronisiert, Ch. 025855,
Hydrocortisonacetat, Ph.Eur., mikronisiert, Ch. 026467,
Prednisolon, Ph.Eur., mikronisiert, Ch. 02528,
Prednison, Ph.Eur., mikronisiert, Ch. 010106,
Triamcinolonacetonid, USP, mikronisiert, Ch. 935861
der Fa. Synochem, Hamburg

Brompheniraminmaleat⁺, Ch. 01112824, Fa. Merck, Darmstadt
Chloropyraminhydrochlorid⁺, Nr. 4182, Fa. Ciba-Geigy, Wehr
Chlorphenaminmaleat⁺, Ch. IRO-KNO-I-H-22, Fa. Byk-Essex, München
Chlorphenoxaminhydrochlorid⁺, Nr. 80039/10268, Fa. Asta-Werke,
Bielefeld

Dimetindenmaleat⁺, Nr. 9823826, Fa. Zyma, München
Diphenhydraminhydrochlorid⁺, Nr. 803320/1013012, Fa. Gödecke,
Freiburg

Pheniraminmaleat⁺, Nr. W 236, Fa. Hoechst, Frankfurt

⁺Verschiedene Arzneistoffe verdanken wir den aufgeführten Firmen. Die Verbindungen entsprechen jeweils den Qualitätsanforderungen der Arzneibücher.

2. Durchführung der Bestimmungen

Herstellung der Eluenten

Zur Herstellung der Fließmittel wurden die wäßrigen Phasen über Cellulosenitrat-Membranfilter, die organischen Phasen über PTFE-Membranfilter filtriert. Nach Vereinigung der Phasen wurde 30 Minuten im Ultraschallbad entgast.

Quantitative Auswertung der Chromatogramme

Die quantitative Bestimmung der Arzneistoffe erfolgte nach der Methode des externen Standards durch je fünfmalige Injektion von Standardlösungen sowie Einpunkteichung und Calibrierung über den Integrator. Nach der Analyse von zehn Proben wurde durch erneute fünfmalige Standardinjektion recalibriert. Die Auswertung der Meßsignale erfolgte über eine Peakflächenbestimmung durch den Integrator.

2.1 Stabilitätsspezifische Bestimmung von Corticosteroiden

Hydrocortison

Stationäre Phase: Radial-Pak C₁₈, 10 µ und Vorsäule Guard-Pak C₁₈

Mobile Phase: 1	Methanol	50,0 Vol.-%
	Wasser	49,5 Vol.-%
	Diisopropylether	0,5 Vol.-%
2	Methanol	69,5 Vol.-%
	Wasser	30,0 Vol.-%
	Diisopropylether	0,5 Vol.-%

Injektionsvolumen: 5 - 25 µl

Meßbereich: 0,1 - 1,0 µg

Durchfluß: mobile Phase 1: 2 ml/min; mobile Phase 2: 3 ml/min

Druck: 500 - 1000 psi

Meßwellenlänge: 254 nm

Empfindlichkeit: 0,05 absorption units full scale (a.u.f.s.)

Schreibergeschwindigkeit: 1 cm/min

Die mobile Phase 1 wurde zur Bestimmung von Hydrocortison in Fertigarzneimittel F verwendet. Zur Analyse von Hydrocortison

in Eigenrezepturen ließ sich die mobile Phase 2 einsetzen, da in diesen Fällen weniger Fremdsubstanzen abzutrennen waren.

Hydrocortisonacetat

Stationäre Phase: Radial-Pak C₁₈, 10 µ und Vorsäule Guard-Pak C₁₈

Mobile Phase: Methanol 60,0 Vol.-%

Wasser 39,5 Vol.-%

Diisopropylether 0,5 Vol.-%

Injektionsvolumen: 10 - 25 µl

Meßbereich: 0,4 - 1,0 µg

Durchfluß: 3 ml/min

Druck: 500 - 1000 psi

Meßwellenlänge: 254 nm

Empfindlichkeit: 0,1 a.u.f.s.

Schreibergeschwindigkeit: 1 cm/min

Dexamethason

Stationäre Phase: Radial-Pak CN, 5 µ und Vorsäule Guard-Pak CN

Mobile Phase: Acetonitril 30,0 Vol.-%

wäßrige Kaliumdihydrogen-

phosphatlösung 14 mM 70,0 Vol.-%

Injektionsvolumen: 30 - 60 µl

Meßbereich: 0,6 - 1,2 µg

Durchfluß: 2 ml/min

Druck: 500 - 800 psi

Meßwellenlänge: 254 nm

Empfindlichkeit: 0,05 a.u.f.s.

Schreibergeschwindigkeit: 0,5 cm/min

Während auf C₁₈-Materialien keine vollständige Trennung von Dexamethason und seinen Abbauprodukten möglich war, gelang die Bestimmung auf einer Nitrilphase. Abbildung 59 zeigt ein HPLC-Chromatogramm der Analyse von Dexamethason in dem stark zersetzten Handelspräparat G nach zweijähriger Lagerung bei 35°C.



Abb. 59

HPLC-Bestimmung von Dexamethason neben seinen Abbauprodukten in Präparat G

- 1 Dexamethason
- 2 Konservierungsmittel
- Z Zersetzungsprodukte des Dexamethasons

Betamethason-17-valerat

Stationäre Phase: Radial-Pak C_{18} , 10μ und Vorsäule Guard-Pak C_{18}

Mobile Phase: 1	Methanol	70,0 Vol.-%
	Wasser	29,5 Vol.-%
	Diisopropylether	0,5 Vol.-%
2 u. 3	Methanol	80,0 Vol.-%
	Wasser	19,5 Vol.-%
	Diisopropylether	0,5 Vol.-%

Injektionsvolumen: 50 - 100 μ l

Meßbereich: 0,7 - 1,3 μ g

Durchfluß: mobile Phasen 1 und 2: 3 ml/min; mobile Phase 3:
4 ml/min

Druck: 500 - 1400 psi

Meßwellenlänge: 254 nm

Empfindlichkeit: 0,05 a.u.f.s.

Schreibergeschwindigkeit: 1 cm/min

Die prozentuale Zusammensetzung des Fließmittels richtete sich nach den abzutrennenden Fremdbestandteilen. Für die Bestimmung von Betamethason-17-valerat in den Fertigarzneimitteln H und I wurde die mobile Phase 1, in den Handelspräparaten K und L die mobile Phase 2 verwendet. Die Analyse des Steroidesters aus selbsthergestellten O/W-Emulsionen erfolgte mit dem Fließmittelsystem 3.

Triamcinolonacetonid

Stationäre Phase: Radial-Pak C₁₈, 10 µ und Vorsäule Guard-Pak C₁₈

Mobile Phase: 1	Methanol	50,0 Vol.-%
	Wasser	49,5 Vol.-%
	Diisopropylether	0,5 Vol.-%
2	Methanol	64,0 Vol.-%
	Wasser	35,5 Vol.-%
	Diisopropylether	0,5 Vol.-%
3	Methanol	80,0 Vol.-%
	Wasser	19,5 Vol.-%
	Diisopropylether	0,5 Vol.-%

Injektionsvolumen: 60 - 100 µl

Meßbereich: 0,3 - 1,2 µg

Durchfluß: mobile Phase 1: 3 ml/min; mobile Phasen 2 und 3:
4 ml/min

Druck: 700 - 1400 psi

Meßwellenlänge: 254 nm

Empfindlichkeit: 0,02 - 0,05 a.u.f.s.

Schreibergeschwindigkeit: 1 cm/min

Die Zusammensetzung des Eluenten richtete sich nach den vom Steroid abzutrennenden Fremdbestandteilen. Die Bestimmung von Triamcinolonacetonid in dem Handelspräparat A erfolgte unter Verwendung der mobilen Phase 1, in Präparat B mit der mobilen Phase 2 und in Präparat C mit der mobilen Phase 3.

Abbildung 60 zeigt ein Chromatogramm der Analyse des Steroids neben seinen Abbauprodukten in Präparat A nach zweijähriger Lagerung bei 35°C.

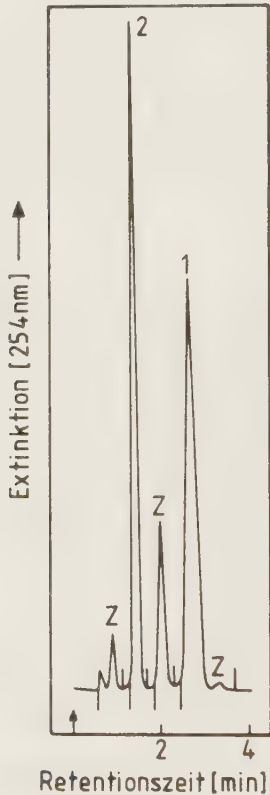


Abb. 60

HPLC-Bestimmung von Triamcinolonacetonid neben seinen Abbauprodukten in Präparat A (Mobile Phase 1)

- 1 Triamcinolonacetonid
- 2 Konservierungsmittel
- Z Zersetzungsprodukte des Triamcinolonacetonids

2.2 Bestimmung von Betamethason neben Dimetindenmaleat

Stationäre Phase: Radial-Pak CN, ID 5 mm, 10 μ und Vorsäule Guard-Pak CN

Mobile Phase: 1	Acetonitril	35,0 Vol.-%
	wäßrige Kaliumdihydrogenphosphatlösung 13 mM	65,0 Vol.-%
	D4-Reagenz	
2	Acetonitril	30,0 Vol.-%
	wäßrige Kaliumdihydrogenphosphatlösung 14 mM	70,0 Vol.-%
	D4-Reagenz	

Injektionsvolumen: 20 - 40 μ l

Meßbereich: 0,4 - 0,8 μ g

Durchfluß: mobile Phase 1: 3 ml/min; mobile Phase 2: 2 ml/min

Druck: 500 - 800 psi

Meßwellenlänge: 254 nm

Empfindlichkeit: 0,05 a.u.f.s.

Schreibergeschwindigkeit: 1 cm/min

Bei Bestimmung der reinen Wirkstoffkombination aus Beta-methason und Dimetindenmaleat wurde die mobile Phase 1 verwendet. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Konservierungsmitteln erfolgte die chromatographische Analyse unter Einsatz der mobilen Phase 2.

2.3 Bestimmung von Antihistaminika und Corticosteroiden auf Kieselgel mit polaren Eluenten

Stationäre Phase: Radial-Pak Si, 10 μ und Vorsäule Guard-Pak Si

Mobile Phase: verschiedene Mischungsverhältnisse aus Acetonitril, Wasser, Phosphorsäure, organischem Amin und ggf. Dikaliumhydrogenphosphat (siehe B. IV.)

Injektionsvolumen: 10 - 100 μ l

Meßbereich: Antihistaminika: 0,5 - 20 μ g; Corticosteroide:
0,1 - 1 μ g

Durchfluß: 3 ml/min

Druck: 400 - 700 psi

Meßwellenlänge: 254 nm

Empfindlichkeit: 0,05 a.u.f.s.

Schreibergeschwindigkeit: 1 cm/min

3. Errechnung von Kapazitätsfaktoren, relativer Retention und Auflösung

Kapazitätsfaktor k' , relative Retention α und Auflösung R sind wichtige chromatographische Parameter zur Charakterisierung einer HPLC-Trennung (197).

Der k' -Wert bezeichnet das Verhältnis der Aufenthaltszeiten einer Substanz in der stationären und mobilen Phase und be-

rechnet sich aus der Retentionszeit t_R der Substanz und der Totzeit t_0 der Trennsäule:

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

Die Totzeiten der stationären Phasen wurden im Rahmen der vorliegenden HPLC-Bestimmungen durch Injektion von reinem Methanol oder reinem Acetonitril bestimmt.

Die relative Retention ist ein Maß für die Selektivität eines Trennsystems und berechnet sich aus dem Verhältnis der Kapazitätsfaktoren zweier getrennter Substanzen:

$$\alpha = \frac{k_2'}{k_1'} \quad \text{für } k_2' > k_1'$$

Da eine hohe relative Retention bei unsymmetrischer Peakform nicht notwendig mit einer Trennung der Substanzen bis zur Basislinie verbunden ist, wird die Güte eines Chromatogramms weiterhin durch die Angabe der Auflösung R charakterisiert. R läßt sich aus der Differenz der Retentionszeiten und dem arithmetischen Mittel der Basisbreiten w berechnen:

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_1 + w_2}$$

Zur quantitativen Analyse genügt eine Auflösung $R > 1,25$. Sehr große Auflösungen führen zu unerwünscht hohen Analysenzeiten (198).

II. Herstellung wirkstoffhaltiger Dermatika

1. Geräte und Materialien

Laborsalbenmischer Unimix SR 15¹⁾, evakuierbar, mit thermostatisiertem Doppelmantel, Fa. Haagen und Rinau, Bremen
Fantaschalen aus Melamin, Fa. Kress und Meinberg, Essen
Elektrische Wasserbäder, Fa. Köttermann, Hänigsen
Wasserdestilliergerät Muldestor, Fa. Wagner und Munz, München
pH-Meter, Typ Nr. 632, Fa. Metrohm, Filderstedt
Dreiwälzenwerk, Typ Exakt 35, Fa. Wagner und Munz, München
Ultra-Turrax, Typ 18/2N, Fa. Jahnke und Kunkel, Staufen
Aponorm-Tubenabfüllgerät, Aponorm-Tubenverschließzange und Aponorm-Aluminiumtuben mit Innenschutzlackierung 30 und 50 g, Fa. Wepa, Paulus und Thewalt, Höhr-Grenzhausen
Braunglasenghalsflaschen mit Schraubverschluß, Typ EHV, 50 ml, Fa. Wepa, Paulus und Thewalt, Höhr-Grenzhausen

Grund- und Hilfsstoffe

Weißes Vaseline DAB 8, Vaseline-Fabrik Rhenania, Bonn
Polysorbat 60, Fa. Atlas-Chemie, Essen
Cetylstearylalkohol, Fa. Henkel, Düsseldorf
Glycerol etwa 87%, reinst, Ph. Eur., Fa. Merck, Darmstadt
Propandiol-(1,2), USP, BP, Fa. Merck, Darmstadt
Sorbinsäure purum, Fa. Fluka, Buchs, CH
Sorbinsäure Kaliumsalz purum, Fa. Fluka, Buchs, CH
p-Hydroxybenzoesäuremethylester purum, Fa. Fluka, Buchs, CH
p-Hydroxybenzoesäurepropylester purum, Fa. Fluka, Buchs, CH
Dikaliumhydrogenphosphat wasserfrei p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat wasserfrei p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Dinatriumhydrogenphosphat-2-hydrat p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Natriumdihydrogenphosphat-1-hydrat p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Citronensäure-1-hydrat p.a., Fa. Merck, Darmstadt
Natriumacetat wasserfrei, Suprapur®, Fa. Merck, Darmstadt
Essigsäure, mind. 96%, Suprapur®, Fa. Merck, Darmstadt
Natrium-EDTA, DAB, Ph. Eur., Fa. Merck, Darmstadt

¹⁾ Der Fa. Zyma, München, danke ich für die Benutzungsmöglichkeit der Kleinprozeßanlage.

Natriumpyrosulfit purum p.a., Fa. Fluka, Buchs, CH
Oxynex® 2004 (Butylhydroxytoluol und Synergisten), Fa. Merck,
Darmstadt

Eisen(II)sulfat p.a., Fa. Merck, Darmstadt

Benzoylperoxid für die Elektronenmikroskopie, Fa. Merck,
Darmstadt

Triäthanolamin reinst, Fa. Merck, Darmstadt

Carbopol® 940, Fa. BFGoodrich, Neuss

Methanol p.a., Fa. Merck, Darmstadt

Sauerstoff reinst, Fa. Linde, München

Stickstoff 99,99%, Fa. Linde, München

Folgende weitere Grund- und Hilfsstoffe mit Arzneibuchquali-
tät bzw. den Spezifikationen der Hersteller wurden eingesetzt:

Weißes Vaseline, Protegin® X (Mischung nichtionischer W/O-
Emulgatoren mit gereinigten mineralischen Fetten), Wollwachs,
Propylenglykol, Glycerin wasserfrei, dickflüssiges Paraffin,
Glycerinmonostearat, Cetylalkohol, Cremophor A 25 (Polyäthylen-
glykolcetylstearylether), Ethanol vergällt, Isopropanol, Na-
triumhydroxid.

Arzneistoffe

Betamethason, mikronisiert, Lot-Nr. 35-10106/83, Fa. Zyma,
München

Betamethason-17-valerat, mikronisiert, Nr. DOH-4-T-41, Fa.
Byk-Essex, München

Hydrocortison, Ph. Eur., mikronisiert, Ch. 025855, Fa.
Synochem, Hamburg

Dimetindenmaleat, Lot-Nr. A 31179, Fa. Zyma, München

2. Herstellung im Rezepturmaßstab

2.1 Bereitung des Wassers

Das verwendete Wasser wurde frisch destilliert und anschlie-
ßend 15 Minuten abgekocht. Unter vorsichtigem Rühren wurden
die Konservierungsmittel in der Hitze gelöst. Während der
Abkühlphase wurde kontinuierlich mit Stickstoff begast und

bei Erkalten auf Raumtemperatur die abgewogenen Puffersubstanzen zugesetzt. Anschließend wurde der pH-Wert kontrolliert.

2.2 Zusammensetzung der Puffermischungen

Die Wasserphasen der O/W-Cremes mit den Wirkstoffen Hydrocortison und Betamethason-17-valerat wurden unter Verwendung von Acetatpuffer oder Phosphatpuffer auf die gewünschten pH-Werte eingestellt. Die Ionenstärke wurde konstant auf $\mu = 0,05$ gehalten (199). Aus Tabelle 40 sind die dabei eingesetzten Pufferkonzentrationen ersichtlich.

pH-Wert	Essigsäure Mol/l	Natrium- acetat Mol/l	Dikaliumhydro- genphosphat Mol/l	Natriumdihydro- genphosphat Mol/l
4,5	0,0770	0,050	-	-
4,75	0,0420	0,050	-	-
5,0	0,0250	0,050	-	-
5,25	0,0140	0,050	-	-
5,5	0,0080	0,050	-	-
6,0	-	-	0,0062	0,0333
8,0	-	-	0,0161	0,0014

Tab. 40 Pufferung der Wasserphase corticosteroidhaltiger O/W-Cremes

$$\mu = 0,05$$

Bei der Herstellung von Propylenglykol/Wassermischungen und O/W-Cremes mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat wurde das verwendete Wasser mit Phosphatpuffer nach Sörensen (199) gepuffert:

pH 5,0 0,00063 Mol/l Dinatriumhydrogenphosphat-2-hydrat
 0,06607 Mol/l Kaliumdihydrogenphosphat
 $\mu = 0,068$

pH 5,5 0,00260 Mol/l Dinatriumhydrogenphosphat-2-hydrat
 0,06410 Mol/l Kaliumdihydrogenphosphat
 $\mu = 0,072$

2.3 Herstellung wirkstoffhaltiger O/W-Cremes

Herstellung phosphatpufferhaltiger Grundlagen

In eine austarierte Fantaschale mit Pistill wurden die lipophilen Bestandteile (Vaselin, Cetylstearylalkohol, ggf. lipophile Stabilisatoren) der jeweiligen Rezeptur eingewogen. Die hydrophilen Cremebestandteile (Wasser mit Konservierungsmittel und Pufferzusatz, Polysorbat 60, Glycerol 85%, ggf. Stabilisierungs- oder Destabilisierungszusätze) wurden in ein 250 ml Becherglas eingewogen. Beide Phasen wurden getrennt auf 70°C erhitzt und bei dieser Temperatur die hydrophile Phase in kleinen Portionen in die lipophile Phase eingearbeitet. Anschließend wurde bis zum Erkalten auf Raumtemperatur weitergerührt und das verdunstete Wasser ergänzt.

Herstellung acetatpufferhaltiger Grundlagen

Die Herstellung acetatpufferhaltiger Grundlagen erfolgte durch Kaltemulgierung, da andernfalls durch Verdunstung der Essigsäure der pH-Wert der Wasserphase nicht konstant gehalten werden kann.

Mit Ausnahme des gepufferten und konservierten Wassers wurden alle Rezepturbestandteile in eine Fantaschale eingewogen und unter Rühren auf dem Wasserbad aufgeschmolzen (70°C). Nach dem Kaltrühren bis auf Raumtemperatur wurde in die entstandene Absorptionsgrundlage das Wasser in kleinen Anteilen einemulgiert.

Einarbeitung der Wirkstoffe

Der/die Wirkstoff(e) wurde(n) in eine austarierte Fantaschale mit Pistill eingewogen und mit wenigen Tropfen Glycerol gründlich angerieben. Anschließend wurde die Grundlage in kleinen Anteilen unter Rühren zugefügt. Die wirkstoffhaltige

Zubereitung wurde zur Homogenisierung viermal durch eine Salbenmühle gegeben und schließlich in Tuben abgefüllt.

2.4 Herstellung wirkstoffhaltiger Propylenglykol/Wasser-Mischungen

50 ml Braunglasflaschen wurden mit Stickstoff ausgeblasen, anschließend die Wirkstoffe sowie ggf. Destabilisierungszusätze eingewogen. Das konservierte und gepufferte Wasser wurde mit Propylenglykol gemischt und zugewogen. Die Oberfläche jeder Zubereitung wurde mit Stickstoff begast, die Flaschen anschließend sofort verschlossen und gut geschüttelt.

3. Herstellung im geschlossenen System unter Sauerstoffausschluß

Die Herstellung der Rezepturen in der Kleinprozeßanlage erfolgte im 5 kg-Maßstab.

Zur Sicherstellung eines bei allen Chargen gleichbleibenden Herstellungsvorganges wurden die Misch-, Emulgier- und Dispergiervorgänge sowie Aufheiz- und Abkühlzeiten in Vorversuchen festgelegt.

Das verwendete Wasser war destilliert und sterilfiltriert.

3.1 Herstellung wirkstoffhaltiger O/W-Cremes

Herstellung der Grundlagen

Wasser, Konservierungsmittel sowie Puffersubstanzen wurden in den Kessel eingewogen (Phase A). Von jeder Rezeptur wurden dabei 500 g Wasser zurückbehalten. Bei vollständig verschlossenem Kessel wurde Phase A sodann erhitzt und 15 Minuten gekocht.

Nach Abkühlung auf 80°C wurde der Überdruck vorsichtig abgelassen und Phase A wurde über ein Fenster in der Kesseloberseite während einer vierzigminütigen Abkühlphase bis auf 20°C mit Stickstoff begast. Anschließend wurde der Kessel evakuiert und Phase A erneut auf 70°C erhitzt.

Mit Ausnahme des in den Rezepturen C enthaltenen Ethanol wurden alle übrigen Bestandteile der Grundlage gemeinsam in einer Cromargan®-Schale auf dem Wasserbad bei 70°C aufgeschmolzen (Phase B). Von jeder Rezeptur wurden dabei 100 g Propylenglykol zurückbehalten.

Bei laufendem Rührer und zugeschaltetem Homogenisator am Kesselboden wurde Phase B mit der Vakuumpumpe in den Kessel eingesaugt. Während fünf Minuten wurde die Emulsion bei 70°C gehalten und mit höchster Drehzahl homogenisiert. Anschließend wurde die Zubereitung innerhalb von 45 Minuten bei laufendem Rührer auf 25°C abgekühlt.

Einarbeitung der Wirkstoffe

Ein 500 ml Meßkolben wurde mit Stickstoff ausgeblasen und Dimetindenmaleat eingewogen. Wasser wurde in einem Glasgefäß mit Auslaßhahn 15 Minuten gekocht und anschließend bis zur Abkühlung auf Raumtemperatur mit Stickstoff begast. Über den Auslaßhahn wurde das Wasser direkt in den Meßkolben geleitet und dieser bis zur Marke aufgefüllt. Die 500 ml Wasser entsprachen der bei Phase A zurückgehaltenen Menge.

Dimetindenmaleat löste sich im Wasser vollständig und wurde bei einer Temperatur der Grundlage < 25°C über das Fenster an der Kesseloberseite bei laufendem Homogenisator und gleichzeitiger Stickstoffbegasung des gesamten Kessels zugegeben.

Betamethason wurde zusammen mit dem bei Phase B zurückgehaltenen Propylenglykol sowie ggf. dem Ethanol in ein hohes 150 ml Becherglas eingewogen. Unter Stickstoffbegasung wurde das Corticosteroid mit einem Ultra-Turrax feinst im Propylenglykol dispergiert. Anschließend erfolgte die Zugabe dieser Mischung zur Grundlage wie für Dimetindenmaleat beschrieben.

Nach erneuter Evakuierung des Kessels wurde weitere 30 Minuten gerührt und homogenisiert. Anschließend wurde der Homogenisator zwischen Kessel und Auslaßhahn der Anlage abgesenkt. Die Entnahme der Zubereitung erfolgte unter Stickstoffdruck über den Auslaßhahn am Kesselboden. Das Produkt wurde dabei nochmals zwangshomogenisiert. Die Abfüllung er-

folgte zunächst in Polyethylenbeutel, welche zuvor mit Stickstoff ausgeblasen wurden. Anschließend wurden die Cremes unter Inertbegasung in Tuben abgefüllt.

Zur Herstellung der Monopräparate mit Hydrocortison bzw. Betamethason-17-valerat wurde ebenso verfahren. Die Dispergierung des Corticosteroids erfolgte in diesen Fällen in bei Phase B zurückgehaltenem Glycerol.

3.2 Herstellung wirkstoffhaltiger W/O-Salben

Die Anfertigung der W/O-Salben erfolgte weitgehend analog der zur Herstellung von O/W-Cremes beschriebenen Methode. Sowohl Phase A (Wasser mit Konservierungsmitteln sowie ggf. Puffersubstanzen) als auch Phase B (alle übrigen Bestandteile der Grundlage mit Ausnahme des Alkohols) wurden jedoch auf 80°C erhitzt und bei dieser Temperatur emulgiert. Die Abkühlphase der Grundlage verlängerte sich damit auf 50 Minuten.

Der in den W/O-Zubereitungen enthaltene Alkohol wurde gemeinsam mit bei Phase B zurückgehaltenem Propylenglykol zur Dispergierung von Betamethason verwendet.

3.3 Herstellung wirkstoffhaltiger Hydrogele

Das Wasser wurde unter Zusatz der Konservierungsmittel und Propylenglykol im Kessel erhitzt, 15 Minuten gekocht und sodann unter Einleitung von Stickstoff bis auf 20°C abgekühlt, wie es für Phase A bei der Herstellung von O/W-Cremes beschrieben wurde. Vom Wasser wurden dabei jeweils 500 g, von Propylenglykol bei den Rezepturen E 1 und E 2 je 100 g zurückbehalten.

Das in 500 ml Wasser gelöste Dimetindenmaleat wurde unter Rühren und Inertbegasung der Propylenglykol/Wasser-Mischung zugesetzt. Anschließend wurde unter weiterer Stickstoffbegasung durch das Fenster an der Kesseloberseite vorsichtig das Carbopol® aufgestreut. Der Kessel wurde evakuiert und die Mischung sodann mit dem Homogenisator bei höchster Dreh-

zahl fünf Minuten dispergiert. Anschließend verblieb die Dispersion 15 Minuten unter Vakuum in Ruhe.

Nunmehr erfolgte die Zugabe des Betamethasons, welches im Falle der Rezepturen E 1 und E 2 in der zurückgehaltenen Menge Propylenglykol dispergiert wurde. Bei Herstellung der Rezeptur E 3 wurde das Corticosteroid in der gesamten Menge Isopropanol gelöst. Der verwendete Alkohol wurde zuvor 60 Minuten mit Stickstoff begast.

Nach der Zugabe des Steroids wurde am Kessel wiederum Vakuum angelegt und zehn Minuten mit Rührer und Homogenisator durchmischt. Schließlich wurde das Neutralisationsmittel bei langsamer Drehzahl des Rührers unter Stickstoffbegasung zugetropft.

Nach erfolgter Gelbildung wurde erneut Vakuum angelegt und weitere 30 Minuten gerührt. Das Gel verblieb jeweils über Nacht im Kessel unter Vakuum, um evtl. enthaltene Stickstoffblasen zu entfernen.

Die Abfüllung der Zubereitungen erfolgte wie bei den O/W-Cremes beschrieben.

III. Extraktion der Wirkstoffe aus Dermatika

1. Geräte und Materialien

Laborzentrifuge UJ 1, Fa. Christ, Osterode

Zentrifugengläser 10 ml mit Schraubverschluß und Teflon-dichtung, Fa. Schott, Mainz

Selecta-Faltenfilter, Durchmesser 90 mm, Fa. Schleicher und Schüll, Dassel

Ganzglasfiltrationsgerät, Fa. Millipore, Bedford, U.S.A.

PTFE-Membranfilter 0,5 μ , Typ FH, Fa. Millipore, Bedford, U.S.A.

Ultraschallbad Sonorex AK 510, Fa. Bandelin, Berlin

Methanol p.a., Fa. Merck, Darmstadt

Acetonitril p.a., Fa. Merck, Darmstadt

Tetrachlorkohlenstoff p.a., Fa. Merck, Darmstadt

2. Aufbereitung von O/W-Zubereitungen

Nach der folgenden Methode wurden sowohl die untersuchten Handelspräparate⁺⁾ als auch alle selbsthergestellten, wirkstoffhaltigen O/W-Zubereitungen für die quantitative HPLC-Bestimmung aufbereitet:

Etwa 1 g der Emulsion wurde in ein 10 ml Zentrifugenglas genau eingewogen und 10 ml filtrierte Methanol zupipettiert. Die Mischung wurde gut geschüttelt, bis die Creme gleichmäßig im Methanol dispergiert war. Anschließend wurde 20 Minuten zentrifugiert (3500 U/min) und sodann die überstehende Methanolphase in einen 50 ml Meßkolben aus Braunglas überführt.

Die Extraktion des Cremerückstandes wurde zweimal wiederholt, wobei die Probe vor der letzten Zentrifugation 15 Minuten im Ultraschallbad behandelt wurde.

Die im Meßkolben vereinigten Zentrifugate wurden mit Methanol bis zur Meßmarke aufgefüllt und die Lösung durch ein Faltenfilter filtrierte. Das Filtrat wurde zur Injektion in den Hochleistungsflüssigkeitschromatographen verwendet.

⁺⁾ Den Herstellern der untersuchten Fertigarzneimittel danke ich für die Überlassung der Präparate.

3. Aufbereitung von W/O-Zubereitungen

Die Extraktion der Wirkstoffe aus W/O-Salben erfolgte in gleicher Weise wie die Aufbereitung von O/W-Cremes, jedoch unter Verwendung einer Mischung aus gleichen Teilen Tetra-chlorkohlenstoff und Methanol als Extraktionsmittel. In dieser Mischung ließen sich die lipophilen Zubereitungen gut dispergieren. Nach Vereinigung der Zentrifugate wurden die Meßkolben mit reinem Methanol aufgefüllt.

4. Aufbereitung von Hydrogelen

Die Aufbereitung der wirkstoffhaltigen Carbopol[®]-Gele für die HPLC-Bestimmung erfolgte wie die der O/W-Cremes. Da bei Zugabe des Methanols Polyacrylat ausfiel und sich sehr gut abzentrifugieren ließ, genügte zur quantitativen Extraktion der Wirkstoffe eine einmalige Wiederholung des ersten Extraktionsschrittes.

5. Aufbereitung von Propylenglykol/Wasser-Mischungen

Da Betamethason in den Propylenglykol/Wasser-Mischungen suspendiert vorlag, wurden die Zubereitungen zunächst sehr gründlich aufgeschüttelt. Anschließend wurde mit einer Tropfpipette etwa 1 g entnommen und in einen 50 ml Meßkolben genau eingewogen. Der Meßkolben wurde mit einer Mischung aus 60 T Acetonitril und 40 T Wasser aufgefüllt und bis zur vollständigen Lösung des Steroids geschüttelt. Diese Lösung wurde direkt in den Hochleistungsflüssigkeitschromatographen injiziert.

IV. Erstellung einer Fehleranalyse der Wirkstoffbestimmung aus Dermatika

Bei der Untersuchung von Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der quantitativen Analyse von Wirkstoffen aus Dermatika mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie muß zwischen dem Fehler des Analysenverfahrens (Gerätefehler) und dem Fehler der Probenaufbereitung unterschieden werden.

Entsprechend dem Fehlerfortpflanzungsgesetz (200) läßt sich die Gesamtungenauigkeit einer solchen Wirkstoffbestimmung durch folgende Beziehung darstellen:

$$s_{\text{rel}}^2 \text{ (Gesamtanalyse)} = s_{\text{rel}}^2 \text{ (Apparat)} + s_{\text{rel}}^2 \text{ (Probenaufbereitung)}$$

1. Bestimmung der Fehlerbreite bei der Untersuchung selbsthergestellter Corticosteroidcremes

Bei der Untersuchung corticosteroidhaltiger Eigenrezepturen wurde die Gesamtungenauigkeit des Verfahrens sowohl für Hydrocortison als auch für Betamethason-17-valerat durch je zwölfmalige Probenaufbereitung und anschließende HPLC-Analyse derselben Rezeptur ermittelt (Rezepturen H 1, B 1).

Zur Bestimmung des Gerätefehlers wurde jeweils die erste Probe dieser Versuchreihen zwölfmal injiziert.

Aus den ermittelten relativen Standardabweichungen ließ sich die Ungenauigkeit der Probenaufbereitung nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz berechnen.

Aus Tabelle 41 sind die einzelnen Fehlerhöhen der Wirkstoffbestimmung ersichtlich. Der innerhalb der beiden Steroidbestimmungen leicht differierende Gerätefehler ist wahrscheinlich auf eine etwas verschiedene Peaksymmetrie der Wirkstoffe zurückzuführen.

Zur quantitativen Wirkstoffbestimmung aus Corticosteroidcremes wurde jeweils eine Vierfachanalyse durchgeführt, d.h. jeder der im Text angegebenen Werte stellt den Mittelwert aus vier parallel aufbereiteten Proben dar. Aus der Analysenzahl

und der ermittelten Standardabweichung der Gesamtmethode wurde für jeden Wirkstoff die Signifikanz der quantitativen Analyse berechnet (201).

Wirkstoff	s_{rel} (Apparat) [%]	s_{rel} (Probenauf- bereitung) [%]	s_{rel} (Gesamt- analyse) [%]
Hydrocortison	0,42	0,95	1,04
Betamethason- 17-valerat	0,46	0,99	1,09

Tab. 41 Zuordnung der Analysenstreuung bei der Bestimmung von Corticosteroiden aus selbsthergestellten O/W-Cremes

Bei Rezepturen mit Hydrocortison war demnach eine Gehaltsabweichung $\geq 1,65\%$, bei Betamethason-17-valerat $\geq 1,75\%$ signifikant erkennbar.

2. Bestimmung der Fehlerbreite bei der Untersuchung corticosteroidhaltiger Handelspräparate

Zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit der quantitativen Corticosteroidbestimmung aus O/W-Fertigarzneimitteln wurde für jedes Präparat zunächst ebenfalls die Gesamtungenauigkeit des Analysenverfahrens sowie der Gerätefehler bestimmt.

Weiterhin wurde bei jeder Zubereitung die Wiederfindungsrate des Wirkstoffes ermittelt. Dabei wurde eine genau abgemessene Menge des enthaltenen Steroids in das Fertigarzneimittel eingearbeitet und anschließend der Gesamtwirkstoffgehalt über eine Vierfachbestimmung analysiert. Die Differenz zwischen erwartetem Sollgehalt und ermitteltem Gehalt lag im Durchschnitt bei 0,61%. Die einzelnen Wiederfindungsraten sind aus Tabelle 42 ersichtlich.

Wie aus Tabelle 42 weiterhin hervorgeht, lagen die relativen Standardabweichungen des Gesamtanalysenverfahrens deutlich über denjenigen der Eigenrezepturen (Tabelle 41), wogegen der Gerätefehler vergleichbare Werte annahm.

Prä- parat	s _{rel} (Apparat) [%]	s _{rel} (Gesamtanalyse) [%]	Wiederfindungsrate [%]
A	0,40	1,22	100,0
B	0,40	1,38	98,9
C	0,42	1,49	99,2
D	0,43	1,23	100,5
E	0,43	1,26	99,8
F	0,43	1,15	99,6
G	0,47	1,32	100,0
H	0,45	1,38	100,3
I	0,46	1,24	98,2
K	0,44	1,62	100,4
L	0,44	1,41	98,8

Tab. 42 Analysenstreuung und Wiederfindungsrate bei der Bestimmung von Corticosteroiden aus O/W-Fertigarzneimitteln

Da die Probenaufbereitung immer nach der gleichen Methode durchgeführt wurde, ist weniger damit zu rechnen, daß sich der höhere Analysenfehler durch größere Ungenauigkeit bei der Aufbereitung der Fertig-arzneimittel ergab. Vielmehr ist zu vermuten, daß in den Handelspräparaten teilweise inhomogenere Wirkstoffverteilungen vorlagen.

Da bei der Untersuchung der Fertig-arzneimittel ebenfalls Vierfachbestimmungen durchgeführt wurden, konnten Gehaltsabweichungen zwischen $\geq 1,84\%$ (Präparat F) und $\geq 2,60\%$ (Präparat K) signifikant ermittelt werden.

3. Bestimmung der Fehlerbreite bei der Untersuchung von Dermatika mit der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat

Die Bestimmung der Gesamtungenauigkeit der Analyse sowie des Gerätefehlers erfolgte nach der beschriebenen Methode für beide Wirkstoffe jeweils in einer O/W-Creme (Rezeptur C 1), einer W/O-Salbe (Rezeptur D 1) und einem Hydrogel (Rezeptur E 1).

Wie Tabelle 43 zeigt, ergab sich für die Gehaltsbestimmung von Betamethason in allen Zubereitungen eine höhere Ungenauigkeit des Verfahrens als für die Bestimmung von Dimetindenmaleat. Es ist anzunehmen, daß dies auf die weniger homogene Verteilung des suspendierten Corticosteroids zurückzuführen ist.

Charge	Betamethason		Dimetindenmaleat	
	$s_{rel}(\text{Apparat})$ [%]	$s_{rel}(\text{Gesamtanalyse})$ [%]	$s_{rel}(\text{Apparat})$ [%]	$s_{rel}(\text{Gesamtanalyse})$ [%]
C 1	0,46	1,42	0,58	1,08
D 1	0,47	1,70	0,58	1,15
E 1	0,46	1,14	0,58	1,00

Tab. 43 Analysenstreuung bei der Bestimmung von Betamethason und Dimetindenmaleat aus verschiedenen dermatischen Grundlagen

Bei der Analyse des Dimetindenmaleats wurde aufgrund der schlechteren Peaksymmetrie dieser Substanz im Chromatogramm ein höherer Gerätefehler ermittelt. Da das Antihistaminikum in allen Zubereitungen gelöst und damit in sehr homogener Verteilung vorlag, zeigte das Verfahren jedoch eine höhere Gesamtgenauigkeit.

Die Erkennung einer signifikanten Gehaltsabweichung lag nach den ermittelten relativen Standardabweichungen für Betamethason im Bereich zwischen $\geq 1,82\%$ und $\geq 2,72\%$, für Dimetindenmaleat zwischen $\geq 1,60\%$ und $\geq 1,84\%$.

7. Untersuchung physikalisch-chemischer Eigenschaften
der Salbengrundlagen

1. Bestimmung des Wassergehaltes in O/W-Fertigarzneimitteln

Geräte

Plan-Wägegläser Heidbrink®, Fa. Wagner und Munz, München
Trockenschrank, TV 10251219, Fa. Memmert, Schwabach
Exsikkator, Typ Novus, Fa. Wagner und Munz, München
Analysenwaage, Typ 2442, Fa. Sartorius, Göttingen

Durchführung der Bestimmungen

Die Ermittlung des Wassergehaltes von O/W-Emulsionen erfolgte über die Bestimmung des Trocknungsverlustes nach der Plan-Wägegläschenmethode.

Für jedes Präparat wurden drei Parallelbestimmungen durchgeführt und der Mittelwert berechnet.

Jedes Plan-Wägegglas wurde bis zur Gewichtskonstanz bei 105°C getrocknet, anschließend im Exsikkator abgekühlt. Das Wägegglas wurde genau gewogen und sodann 100 - 200 mg der Probe auf die untere, festmontierte Platte genau eingewogen. Durch Gegeneinanderreiben der Planflächen wurde eine gleichmäßige Spreitung der Zubereitung über beide Glasplatten erreicht. Anschließend wurde eine Stunde bei 105°C getrocknet und sodann 30 Minuten im Exsikkator abgekühlt und zurückgewogen. Aus der Gewichts Differenz errechnete sich der Wassergehalt.

2. Bestimmung des pH-Wertes

Geräte

pH-Meter, Typ E 632, Fa. Metrohm, Filderstedt
Zweistabmeßkette, bestehend aus einer Vergleichselektrode, Typ EA 154 und einer Silber/Silberchlorid-Bezugselektrode, Typ EA 440 mit Zwischenelektrolyt und Schliffdiaphragma, Fa. Metrohm, Filderstedt

Durchführung der Messungen

Der pH-Wert wurde bei O/W-Emulsionen und Hydrogelen direkt aus den Zubereitungen ohne Verdünnen mit Wasser bestimmt.

Das Schliffdiaphragma der speziell für die pH-Bestimmung solcher Zubereitungen geeigneten Bezugselektrode wurde nach jeder Messung geöffnet und gereinigt. Anschließend wurde mit 3n Kaliumchloridlösung aufgefüllt.

3. Messung der Konsistenz

Geräte

Elektronisches Penetrometer PNR 6, Typ Nr. 18-000 mit digitaler Zeitvorwahl,

Mikrofettaufnahmegefäße,

Fallstab 16,8 g und Mikrokonus nach Klein, 7,0 g

der Fa. Sommer und Runge, Berlin

Durchführung der Messungen

Die Konsistenzmessungen wurden in einem Klimaraum bei $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ vorgenommen.

Alle untersuchten Dermatika wurden ebenso wie das Gerät und alle Teile der Meßvorrichtung mindestens 48 Stunden vor der Messung bei der Meßtemperatur gelagert.

Die Zubereitungen wurden mit Hilfe eines Spatels unter weitestgehender Vermeidung von Scherung und Einschluß von Luftblasen in die Hälften des Mikrofettaufnahmegefäßes eingebracht, diese zusammengesetzt und überstehende Salbe abgestreift.

Die Penetrationsmessungen erfolgten mit dem Mikrokonus nach Klein entsprechend der DIN-Vorschrift 51804, Blatt 1. Die Fallzeit des Mikrokonus betrug dabei jeweils fünf Sekunden. Die Einsinktiefen wurden in 0,1 mm ermittelt.

Alle im Text angegebenen Einsinktiefen sind Mittelwerte aus vier Bestimmungen.

Bestimmung der Fehlerbreite

Zur Beurteilung der Meßgenauigkeit der penetrometrischen Untersuchungen wurde eine zehnfache Konsistenzbestimmung eines Handelspräparates mittlerer Viskosität durchgeführt.

Die relative Standardabweichung der Methode berechnete sich zu $s_{rel} = 2,51\%$.

4. Rheologische Untersuchungen

Geräte

Rotationsviskosimeter RV 2,

Programmgeber PG 142,

Meßkopf 50 und

Meßeinrichtung SV II P

der Fa. Haake, Karlsruhe

Thermostat, Typ K 2, Fa. Lauda Dr. R. Wobser, Lauda

XY-Schreiber, Typ Omnigraphic, Fa. Houston Instruments,

Houston, U.S.A.

Durchführung der Messungen

Die Zubereitungen wurden unter weitgehender Vermeidung einer Scherung luftblasenfrei in den Meßzylinder eingefüllt (Füllvolumen 5 cm³). Die Messungen erfolgten bei 20°C ± 0,1°C. Die Eintemperierungszeit betrug 20 Minuten.

Von jeder Zubereitung wurde eine Aufwärts- und eine Abwärtskurve mit einer Drehfrequenzzunahme bzw. -abnahme von 256 U/min aufgezeichnet.

Die Berechnung der Quasiviskosität η_Q erfolgte entsprechend folgender Gleichung:

$$\eta_Q = \frac{\tau}{D} = \frac{S \cdot A}{n \cdot M} \quad [\text{mPa} \cdot \text{s}]$$

τ = Schubspannung [mPa]

D = Schergefälle [s⁻¹]

S = Skalenteile RV 2

n = Umdrehungszahl/min RV 2

A = Gerätefaktor für die Schubspannung

M = Gerätefaktor für das Schergefälle

Bestimmung der Fehlerbreite der Methode

Die Reproduzierbarkeit der rheologischen Messungen wurde durch achtmalige Ermittlung der Quasiviskosität bei der höchsten untersuchten Drehzahl ($n = 256$; $D = 199,7 \text{ s}^{-1}$) verschiedener Proben der gleichen Charge einer Zubereitung mittlerer Konsistenz bestimmt.

Die relative Standardabweichung der Methode ergab sich mit $s_{\text{rel}} = 2,26\%$.

VI. Mikroskopische Untersuchung der Partikelgröße

Gerät

Monitormikroskop, Typ 353 275, Fa. Reichert, Wien, A

Vergrößerung: 125 x; 500 x

Durchführung der Bestimmungen

Die Kristallgrößenbestimmung von Corticosteroiden in Dermatika erfolgte in Anlehnung an die Vorschriften zur mikroskopischen Bestimmung der Teilchengröße in Salben bzw. Pasten nach dem 2. AB-DDR sowie der Pharm. Helv. VI.

Bei jeder Bestimmung wurden wenigstens 200 Partikel abgemessen, die aus drei verschiedenen Stellen der Zubereitung stammten. Die jeweils entnommene Menge von etwa 50 mg wurde auf einem Objektträger dünn ausgestrichen und mit einem Deckgläschen versehen.

Da die Wirkstoffkristalle in der Regel nicht rund waren, wurde die größte Ausdehnung der Teilchen abgemessen.

Bei der Auswertung der Meßergebnisse wurden die Partikel in Klassen von 5 μm Klassenbreite eingeordnet. Bei Abmessungen > 100 μm erfolgte eine Einteilung in Klassenbreiten von 10 μm .

D. Z u s a m m e n f a s s u n g

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der chemischen und physikalischen Stabilität corticosteroidhaltiger O/W-Emulsionen zur kutanen Anwendung sowie topischer Kombinationspräparate mit Corticosteroid und Antihistaminikum.

In einer einführenden Literaturübersicht wurde das Zersetzungsverhalten der in die Untersuchungen einbezogenen Corticosteroide in Lösung erläutert.

Um Aufschluß über die Qualität und Lagerstabilität corticosteroidhaltiger Fertigarzneimittel zu erhalten, wurden elf am Markt befindliche O/W-Präparate untersucht und die Veränderung von Wirkstoffgehalt, Partikelgrößen sowie physikalisch-chemischer Eigenschaften der Grundlagen in Abhängigkeit von der Lagertemperatur über einen Lagerzeitraum von zwei Jahren verfolgt.

Zur Ermittlung der Einflußfaktoren, welche die Zersetzung von Corticosteroiden in O/W-Zubereitungen begünstigen, sowie zur Auffindung wirksamer Stabilisierungsmaßnahmen dieser Emulsionen wurden nach einem Variationsschema insgesamt 57 Chargen steroidhaltiger O/W-Cremes hergestellt und untersucht. In Parallelversuchen mit den Wirkstoffen Hydrocortison und Betamethason-17-valerat konnte nachgewiesen werden, daß die Abbaurate von Steroidalkoholen und Steroidestern vielfach durch unterschiedliche Faktoren beeinflußt wird. Durch stabilitätsspezifische HPLC-Untersuchungen konnte die Entstehung von Zersetzungsprodukten in Abhängigkeit der verschiedenen Einflußfaktoren aufgezeigt werden.

Mikroskopische Kristallgrößenbestimmungen sowie Untersuchungen physikalisch-chemischer Eigenschaften der Grundlagen machten die Abhängigkeit dieser Parameter von Herstellungs- oder Lagerbedingungen deutlich.

Aus den Untersuchungsergebnissen wurden Forderungen und Vorschläge für die Entwicklung und Herstellung lagerstabiler Corticosteroidcremes abgeleitet.

Weitere Untersuchungen galten der Stabilität einer Wirkstoffkombination aus Betamethason und Dimetindenmaleat in O/W-Cremes, W/O-Salben und Hydrogelen.

Zur quantitativen Erfassung der beiden Arzneistoffe wurde ein hochleistungsflüssigkeitschromatographisches Verfahren auf einer stationären Nitrilphase entwickelt.

Nachdem in Propylenglykol/Wasser-Mischungen die Auswirkungen verschiedener Einflußfaktoren auf die Stabilität der Wirkstoffkombination abgeklärt worden waren, wurden in einer Kleinprozeßanlage insgesamt 20 Chargen wirkstoffhaltiger Dermatika hergestellt und durch Variation verschiedener Parameter die für den jeweiligen Grundagentyp notwendigen Stabilisierungsmaßnahmen ermittelt.

Zur qualitativen und quantitativen Analyse von Antihistaminika neben Corticosteroiden wurde unter Einbeziehung verschiedener Vertreter dieser Arzneistoffgruppen ein neuartiges hochleistungsflüssigkeitschromatographisches Verfahren entwickelt, welches eine Bestimmung dieser Substanzen auf stationären Kieselgelphasen mit polaren, wäßrigen Eluenten ermöglicht.

Im wesentlichen ergaben sich folgende Befunde:

1. Die untersuchten Fertigarzneimittel zeigten deutliche Unterschiede der Corticosteroidstabilität.

Bereits bei Bezug vom Hersteller enthielten fünf der elf Handelspräparate nicht mehr den erforderlichen Wirkstoffgehalt von mindestens 90% des deklarierten Wertes. Bei drei Zubereitungen wurden sogar Wirkstoffkonzentrationen unter 65% ermittelt.

Nach zweijähriger Lagerung bei 20°C war der unzersetzte Corticosteroidgehalt dreier weiterer Präparate unter die Haltbarkeitsgrenze gesunken. Für eine der elf Zubereitungen konnte dagegen zu diesem Zeitpunkt ein Wirkstoffgehalt von 97% ermittelt werden, obwohl das Fertigarzneimittel bereits vier Jahre alt war.

Diese Ergebnisse lassen die Angabe eines Verfalldatums für corticosteroidhaltige O/W-Emulsionen empfehlenswert erscheinen.

2. Bei Lagertemperaturen von 30°C und höher tritt eine erheblich beschleunigte Corticosteroidzersetzung in O/W-Emulsionen auf. Dies wurde sowohl bei der Untersuchung von Fertigarzneimitteln als auch an Eigenrezepturen deutlich.

Von den Handelspräparaten wies nach Ablauf des zweijährigen Untersuchungszeitraumes bei Aufbewahrung bei 30°C nur eines von elf Präparaten, bei Lagerung bei 35°C keines einen Wirkstoffgehalt von mindestens 90% auf.

Zwischen den einzelnen Corticosteroiden bestehen Unterschiede in der Temperaturabhängigkeit der Zersetzungsgeschwindigkeit. So ergab die Untersuchung von Eigenrezepturen schon bei Erhöhung der Aufbewahrungstemperatur von 20° auf 25°C eine ausgeprägte Zunahme der Abbaurate von Hydrocortison. Für Betamethason-17-valerat wurde dagegen in diesem Temperaturintervall nur eine geringfügige Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit ermittelt.

3. Die untersuchten Corticosteroidcremes mit suspendiertem Wirkstoff zeigten bei erhöhter Lagertemperatur ein rasches Partikelwachstum sowie eine ausgeprägte Nachhärtung der Grundlagen. So wies beispielsweise Handelspräparat A bei Bezug vom Hersteller mikrodisperse Wirkstoffpartikel $\leq 1 \mu\text{m}$ auf. Während zweijähriger Lagerung bei 30°C wuchsen die Kristalle auf Partikelgrößen zwischen 20 und 40 μm an. Die Quasiviskosität der Grundlage stieg während der gleichen Zeit um 35,5%.

Ähnliche Ergebnisse lieferten Untersuchungen an Eigenrezepturen. Dabei zeigte sich ferner, daß das Kristallwachstum suspendierter Corticosteroide in O/W-Emulsionen durch Erhöhung der Dielektrizitätskonstante der Wasserphase begünstigt wird.

4. Für die überwiegende Zahl der Handelspräparate wurde eine Abnahme des pH-Wertes der Wasserphase mit zunehmender Lagerzeit und -temperatur nachgewiesen. Während des zweijährigen Untersuchungszeitraumes sanken die pH-Werte bei einer

Lagertemperatur von 20°C durchschnittlich um 0,25, bei 35°C durchschnittlich um 0,95 pH-Einheiten.

Da die Untersuchung selbsthergestellter Corticosteroid-cremes zeigte, daß eine Veränderung des pH-Wertes durch Pufferung der Wasserphase vermieden werden kann, muß geschlossen werden, daß diese Maßnahme bei den überprüften Fertigarzneimitteln bis auf eine Ausnahme unterblieb.

5. Corticosteroide besitzen in O/W-Emulsionen ein für die jeweilige Verbindung spezifisches pH-Optimum. Dieses wird durch den Zersetzungsmechanismus bestimmt und muß für jedes Corticosteroid abgeklärt werden.

Im dermatologisch sinnvollen pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,0 besitzt Hydrocortison in O/W-Cremes die größte Stabilität bei pH 5,5 - 6,0, Betamethason-17-valerat dagegen bei pH 4,5.

Im Alkalischen wird die Zersetzung beider Corticosteroide stark beschleunigt.

Während Hydrocortison in O/W-Cremes in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserphase zu unterschiedlichen Reaktionsprodukten abgebaut wird, verläuft die Zersetzung von Betamethason-17-valerat zunächst immer über eine Umlagerungsreaktion und anschließende Hydrolyse zu freiem Betamethason. Beide Abbauschritte des Steroidesters sind in O/W-Emulsionen basenkatalysiert.

6. Faktoren, welche oxidative Reaktionsprozesse beschleunigen, wie beispielsweise Schwermetall- oder Peroxidverunreinigungen sowie Luftsauerstoff, wirken sich negativ auf die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Cremes aus. Vielfach ist das Ausmaß dieses Einflusses pH-abhängig. Unter allen oxidationskatalysierten Bedingungen entstehen jedoch qualitativ die gleichen Zersetzungsprodukte.

Die Abbaugeschwindigkeit des Steroidesters wird durch Faktoren, welche Oxidationsprozesse begünstigen, vergleichsweise weniger beeinflusst, da die ersten Zersetzungsschritte dieses Wirkstoffes keine Oxidationsreaktionen sind. Erst

unter aggressiveren Bedingungen wird die Zersetzung deutlich beschleunigt, und es entstehen oxidative Folgeabbauprodukte des Hydrolyseproduktes Betamethason.

7. Die Dielektrizitätskonstante der Wasserphase hat Einfluß auf die Zersetzungsgeschwindigkeit der Steroide in O/W-Cremes.

Bei Hydrocortison wird die Zunahme der Abbaurate bei erhöhter Dielektrizitätskonstante auf die größere Sauerstofflöslichkeit in Medien höherer Polarität zurückgeführt, wodurch Oxidationsprozesse begünstigt werden. So stieg beispielsweise die Zersetzungsrate des Steroidalkohols bei Austausch des Propylenglykolanteils der Wasserphase gegen reines Wasser während neunmonatiger Lagerung bei 20°C um mehr als 10%.

Bei Betamethason-17-valerat ließ sich eine vermehrte Entstehung des Hydrolyseproduktes Betamethason bei erhöhtem DK-Wert nachweisen.

8. Die Stabilität von Hydrocortison in O/W-Emulsionen kann durch Zusatz eines Komplexbildners wesentlich verbessert werden; auch Redoxstabilisatoren und Antioxidantien besitzen eine stabilisierende Wirkung.

Bei Pufferung der Wasserphase auf pH 6,0 wurde unter Zusatz einer Stabilisatorkombination eine Rezeptur entwickelt, die bei einer Lagertemperatur von 20°C unter Zugrundelegung graphisch ermittelter $t_{90\%}$ -Werte ungefähr acht Jahre haltbar ist. Es gelingt dabei, die oxidativen Abbaureaktionen des Steroidalkohols zu verhindern. Der nichtoxidative, protonenkatalysierte Abbau wird durch Einstellung auf pH 6,0 eingeschränkt, aber nicht völlig unterbunden.

Ähnliche Ergebnisse lassen sich bei pH 6,0 durch Herstellung der Hydrocortisoncreme unter Ausschluß von Luftsauerstoff erreichen.

Eine Stabilisierung des Steroidesters Betamethason-17-valerat kann durch Zusatz oxidationshemmender Stabilisa-

toren nur mit Einschränkung erfolgen. Auch eine Herstellung der Zubereitung unter Sauerstoffausschluß ist weniger wirkungsvoll als beim Steroidalkohol.

Durch Pufferung der Wasserphase auf pH 4,5 und unter Verwendung einer Stabilisatorkombination konnte jedoch eine Creme mit Betamethason-17-valerat entwickelt werden, die bei Berücksichtigung graphisch ermittelter $t_{90\%}$ -Werte etwa dreieinhalb Jahre haltbar ist.

9. Für den Abbau suspendierter Corticosteroide in O/W-Zweiphasensystemen läßt sich keine Reaktionsordnung und mithin keine Arrheniusbeziehung erstellen. Eine graphische Ermittlung von $t_{90\%}$ -Werten ist jedoch möglich.
10. Bei Kombination des Corticosteroids Betamethason mit dem Antihistaminikum Dimetindenmaleat werden beide Wirkstoffe schneller zersetzt als bei Verarbeitung als Einzelsubstanzen. So war beispielsweise in einer bei 40°C gelagerten Propylenglykol/Wasser-Mischung der Abbau von Betamethason nach zwölf Wochen um etwa 2,5%, der des Dimetindenmaleats ungefähr um 2% höher als in den vergleichbaren Rezepturen mit Einzelwirkstoffen.

Die Zersetzung des Dimetindenmaleats ist ausgeprägt temperaturabhängig und wird besonders von Peroxiden und Luftsauerstoff beschleunigt.

Während die pH-Abhängigkeit des Dimetindenabbaus im schwach sauren Bereich unwesentlich ist, sollte der pH-Wert der Wasserphase im Hinblick auf die Stabilität von Betamethason nicht über pH 5,0 liegen.

Schwermetallspuren, Peroxidverunreinigungen und Luftsauerstoff katalysieren die Zersetzung des Corticosteroids.

Zusatz von Alkohol, der eine Lösung des Steroids herbeiführt, wirkt sich besonders negativ auf dessen Stabilität aus.

11. Die Stabilität der Wirkstoffkombination Betamethason/Dimetindenmaleat in Dermatika wird durch die Herstellung unter Ausschluß von Luftsauerstoff wesentlich verbessert.

Die Zersetzung des Corticosteroids kann außerdem mit Hilfe eines Komplexbildners, die des Antihistaminikums durch Zusatz eines Redoxstabilisators verzögert werden.

Durch Herabsetzung der Polarität des Mediums, in dem Dimetindenmaleat löslich ist, läßt sich die Stabilität des Antihistaminikums verbessern. Die Senkung des DK-Wertes sollte jedoch nicht durch Zugabe eines Alkohols bewirkt werden, in dem Betamethason löslich ist.

12. Aufgrund der grenzflächenaktiven Eigenschaften des Antihistaminikums Dimetindenmaleat kann die physikalische Stabilität von W/O-Emulsionen gefährdet werden. Durch Mizzellbildung des amphiphilen Wirkstoffes mit nichtionischen Emulgatoren kann es nach einer bestimmten Lagerzeit zum Brechen der Emulsion kommen.
13. Der Anwendungsbereich stationärer Kieselgelphasen in der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie läßt sich auf die Verwendung polarer, wäßriger Eluenten erweitern, wenn der mobilen Phase ein organisches Amin zugesetzt wird. Auf diese Weise lassen sich z.B. basische Verbindungen wie Antihistaminika und nichtionische Substanzen wie Corticosteroide trennen und bestimmen. Das System zeigt dabei überwiegend "reversed-phase-Eigenschaften", besitzt aber gegenüber herkömmlichen reversed-phase-Materialien wesentliche Vorteile, wie beispielsweise bessere Reproduzierbarkeit, geringere Materialkosten und längere Lebensdauer der verwendeten Säulen.

E. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- (1) SULZBERGER, M.B. und V.H. WITTEN
J. Invest. Dermatol. 19, 101 (1952)
- (2) STÜTTGEN, G.
Der Hautarzt 31, 199 (1981)
- (3) RING, J.
Pharm. Unserer Zeit 11, 138 (1982)
- (4) CHLEBAROV, S.
Apoth. J., Heft 11, 18 (1983)
- (5) PRZYBILLA, B. und J. RING
Med. Mo. Pharm. 6, 195 (1983)
- (6) FRICKE, U.
Dtsch. Apoth.-Ztg. 123, 2255 (1983)
- (7) IPPEN, H.
Probleme bei der externen Anwendung von Glucocorticoiden
in: Schriftenreihe der Bundesapothekerkammer zur wissen-
schaftlichen Fortbildung, Band III/Gelbe Reihe, Frank-
furt a.M. 1975
- (8) ALTMAYER, P.
Der Hautarzt 28, 83 (1977)
- (9) SCHNEIDER, W.
Der Hautarzt 26, 88 (1975)
- (10) AMUNDSEN, B., K.L. NENNINGSLAND und P. FINHOLT
Medd. Norsk. Farm. Selsk. 43, 1 (1981)
- (11) MÖES-HENSCHER, V. und F. JAMINET
J. Pharm. Belg. 30, 390 (1975)
- (12) BARRY, B.W. und R. WOODFORD
Brit. J. Dermatol. 95, 423 (1976)
- (13) WOODFORD, R. und B.W. BARRY
Curr. Ther. Res. 21, 877 (1977)
- (14) WOODFORD, R. und B.W. BARRY
Curr. Ther. Res. 26, 601 (1979)

- (15) WOODFORD, R.
Curr. Ther. Res. 29, 17 (1981)
- (16) LORENZETTI, O.J.
Topical Steroid Therapie
in: M. GOLDBERG (edit): Pharmacological and Biochemical
Properties of Drug Substance, Am. Pharm. Assn.,
Washington D.C. 1981
- (17) DEKKER, D. und J.H. BEIJNEN
Pharm. Acta Helv. 57, 1 (1982)
- (18) ROTHLEY, D.
Dissertation, Frankfurt a.M. 1980
- (19) FLOREY, K.
Anal. Profiles Drug Subst., Vol. 12,
Academic Press, New York, London 1983
- (20) Europäisches Arzneibuch, Band II
- (21) The United States Pharmacopoeia 20th Revision (USP XX)
- (22) British Pharmacopoeia 1980
- (23) Österreichisches Arzneibuch, 9. Ausgabe
- (24) Schweizer Arzneibuch, 6. Ausgabe (Pharm. Helv. VI)
- (25) HANSEN, J. und H. BUNDGAARD
Arch. Pharm. Chemi, Sci. Ed. 8, 91 (1980)
- (26) BUNDGAARD, H. und J. HANSEN
Arch. Pharm. Chemi, Sci. Ed. 7, 19 (1979)
- (27) HANSEN, J. und H. BUNDGAARD
Arch. Pharm. Chemi, Sci. Ed. 8, 5 (1980)
- (28) OESTERLING, T.O. und D.E. GUTTMAN
J. Pharm. Sci. 53, 1189 (1964)
- (29) EL-SAYED, A.A.
Pharm. Ind. 2, 3 (1977)
- (30) CORNEJO, J., M.C. HERMOSIN, J.L. WHITE, G.E. PECK und
S.L. HEM
J. Pharm. Sci. 69, 945 (1980)

- (31) LEWBART, M.L. und V.R. MATTOX
Nature 183, 820 (1959)
- (32) CHULSKI, T. und A.A. FORIST
J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 47, 553 (1958)
- (33) JOHNSON, D.M.
J. Org. Chem. 47, 198 (1982)
- (34) HAMLIN, W., T. CHULSKI, R.H. JOHNSON und J.G. WAGNER
J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 49, 253 (1960)
- (35) HANSEN, J. und H. BUNDGAARD
Arch. Pharm.Chemi, Sci. Ed. 9, 55 (1981)
- (36) COHEN, M.
in: K. FLOREY (edit): Anal. Profiles Drug Subst., Vol. 2,
Academic Press, New York, London 1973
- (37) GRIMM, W. und G. SCHEPKY
Stabilitätsprüfung in der Pharmazie,
Editio Cantor, Aulendorf 1980
- (38) ALLEN, E.A. und V. DAS GUPTA
J. Pharm. Sci. 63, 107 (1974)
- (39) GUTTMAN, D.E. und P.D. MEISTER
J. Am. Pharm. Assoc. 47, 773 (1958)
- (40) HANSEN, J. und H. BUNDGAARD
Int. J. Pharm. 6, 307 (1980)
- (41) DEKKER, D.
Pharm. Weekbl., Sci. Ed. 2, 266 (1980)
- (42) DEKKER, D. und J.H. BEIJNEN
Pharm. Weekbl., Sci. Ed. 2, 1116 (1980)
- (43) DEKKER, D. und D.J. BUIJS
Pharm. Weekbl., Sci. Ed. 2, 562 (1980)
- (44) LANOQUETTE, M. und B.A. LODGE
J. Chromatogr. 129, 475 (1976)
- (45) SATO, T., Y. SAITO, K. YAMAOKA und M. NISHIKAWA
Yakuzaigaku 39, 20 (1979)
- (46) DEKKER, D.
Pharm. Weekbl., Sci. Ed. 1, 114 (1979)

- (47) DEKKER, D.
Pharm. Weekbl., Sci. Ed. 2, 839 (1980)
- (48) DEKKER, D.
Pharm. Weekbl., Sci. Ed. 2, 567 (1980)
- (49) DEKKER, D. und J.H. BEIJNEN
J. Chromatogr. 193, 480 (1980)
- (50) BUNDGAARD, H.
Arch. Pharm. Chemi, Sci. Ed. 6, 127 (1978)
- (51) TIMMINS, P. und E.A. GRAY
J. Clin. Hosp. Pharm. 8, 79 (1983)
- (52) LEA, A.R., J.M. KENNEDY und G.K.-C. LOW
J. Chromatogr. 198, 41 (1980)
- (53) PO, A. LI WAN, W.J. IRWIN und Y.W. YIP
J. Chromatogr. 176, 399 (1979)
- (54) Europäisches Arzneibuch, Band III
- (55) WAHBA, S.K., S.W. AMIN und N. ROFAEL
J. Pharm. Sci. 57, 1231 (1968)
- (56) DEKKER, D. und D.J. BUIJS
Int. J. Pharm. 5, 195 (1980)
- (57) DEKKER, D. und J.H. BEIJNEN
Acta Pharm. Suec. 18, 185 (1981)
- (58) THOMA, K. und R. SPENGLER
Publikation in Vorbereitung
- (59) JUENGE, E.C. und P.E. FLINN
J. Pharm. Sci. 70, 415 (1981)
- (60) SIEH, D.H.
in: K. FLOREY (edit): Anal. Profiles Drug Subst., Vol. 11,
Academic Press, New York, London 1982
- (61) MEHTA, A.C. und R.T. CALVERT
Brit. J. Pharm. Pract. 10, 12 (1982)
- (62) BUNDGAARD, H. und J. HANSEN
Int. J. Pharm. 7, 197 (1981)

- (63) YIP, Y.W. und A. LI WAN PO
J. Pharm. Pharmacol. 31, 400 (1979)
- (64) HANSEN, J. und H. BUNDGAARD
Int. J. Pharm. 8, 121 (1981)
- (65) FLOREY, K.
Anal. Profiles Drug Subst., Vol. 1,
Academic Press, New York, London 1972
- (66) TIMMINS, P. und E.A. GRAY
J. Pharm. Pharmacol. 35, 175 (1983)
- (67) DAS GUPTA, V.
J. Pharm. Sci. 72, 1453 (1983)
- (68) SMITH, L.L., M. MARX, J.J. GARBARINI, T. FOELL, V.E.
ORIGONI und J.J. GOODMAN
J. Am. Chem. Soc. 82, 4616 (1960)
- (69) SMITH, L.L. und M. MARX
J. Am. Chem. Soc. 82, 4625 (1960)
- (70) THOMA, K.
Dermatika, Werbe- und Vertriebsgesellschaft Deutscher
Apotheker mbH, Frankfurt a.M. 1983
- (71) REHM, K.D. und M. STEINIGEN
Pharm. Ztg. 127, 888 (1982)
- (72) RYATT, K.S., J.W. FEATHER, A. MEHTA, J.B. DAVIDSON,
J.A. COTTERILL und R. SWALLOW
Brit. J. Dermatol. 107, 71 (1982)
- (73) SCHWENDINGER, J., D. SCHAAF und B. MARSCHALL
Haltbarkeits- und Herstellungsdaten deutscher Arznei-
mittel, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart 1983
- (74) VOIGT, R. und D. TERBORG
Pharmazie 33, 814 (1978)
- (75) KÖGEL, J. und W. HORSCH
Pharmazie 33, 738 (1978)
- (76) HORSCH, W., J. KÖGEL, C. TEICH und M. WENDRICH
Pharmazie 28, 669 (1973)

- (77) JASPERSEN, H.P.
Acta Pharm. Technol. 18, 32 (1972)
- (78) KAIHO, F., T. ISHIBASHI und Y. KATO
Chem. Pharm. Bull. 30, 985 (1982)
- (79) KUHNERT-BRANDSTÄTTER, M.
Pharm. Ind. 39, 377 (1977)
- (80) MESLEY, R.J. und C.A. JOHNSON
J. Pharm. Pharmacol. 17, 329 (1965)
- (81) HALEBLIAN, J. und W. MCCRONE
J. Pharm. Sci. 58, 911 (1969)
- (82) DUAX, W.L., J.F. GRIFFIN, D.C. ROHRER und C.M. WEEKS
Lipids 15, 783 (1980)
- (83) CALLOW, R.K. und O. KENNARD
J. Pharm. Pharmacol. 13, 723 (1961)
- (84) KATZ, M. und B.J. POULSEN
J. Soc. Cosmet. Chem. 23, 565 (1972)
- (85) NÜRNBERG, E. und P. KOHL
Dtsch. Apoth.-Ztg. 120, 1649 (1980)
- (86) LOTH, H.
Krankenhauspharmazie 3, 84 (1982)
- (87) WEPIERRE, J.
Formulation Prep. Dosage Forms,
Proc. Int. Congr. Pharm. Sci., F.I.P. 37th 1977
- (88) IDSON, B.
J. Soc. Cosmet. Chem. 22, 615 (1971)
- (89) KOTWAS, J. und A. ZESCH
Dtsch. Apoth.-Ztg. 119, 481 (1979)
- (90) NÜRNBERG, E.
Dtsch. Apoth.-Ztg. 117, 1068 (1977)
- (91) SAUTTER, A., E. DOELKER, P. BURI und D. MORDIER
J. Pharm. Belg. 32, 379 (1977)
- (92) LIPPOLD, B.C.
Pharm. Ind. 38, 201 (1976)

- (93) FÜHRER, C.
Arzneiformen in der Dermatologie
in: Schriftenreihe der Bundesapothekerkammer zur
wissenschaftlichen Fortbildung, Band VIII/Gelbe Reihe,
Frankfurt a.M. 1980
- (94) ERÖS, I. und E. UGRI-HUNYADVARI
Pharmazie 32, 788 (1977)
- (95) ERÖS, I. und E. UGRI-HUNYADVARI
Cosmet. Toiletries 94, 68 (1977)
- (96) BARRY, B.W.
Adv. Pharm. Sci. 4, 1 (1974)
- (97) ERÖS, I. und G. KEDVESSY
Sci. Pharm. 37, 2 (1969)
- (98) GSTIRNER, F. und H.J. BODENBACH
Arch. Pharm. 296, 184 (1963)
- (99) HUNYADVARI, E. und I. ERÖS
Sci. Pharm. 42, 46 (1974)
- (100) DAVIS, S.S.
Pharm. Acta Helv. 49, 161 (1974)
- (101) CHRISTOFF, K.
Pharmazie 22, 251 (1967)
- (102) ERÖS, I. und E. UGRI-HUNYADVARI
Pharmazie 32, 788 (1977)
- (103) KEDVESSY, G. und I. ERÖS
Dtsch. Apoth.-Ztg. 114, 1349 (1974)
- (104) ERÖS, I. und E. UGRI-HUNYADVARI
Pharmazie 32, 784 (1977)
- (105) ERÖS, I.
Pharmazie 31, 241 (1976)
- (106) ERÖS, I.
Pharmazie 31, 390 (1976)
- (107) WAARD, J.B., J.F. KINNEY und H.Y. SAAD
J. Soc. Cosmet. Chem. 25, 437 (1974)

- (108) NEUWALD, F.
Fette, Seifen, Anstrichm. 76, 447 (1974)
- (109) ASCHE, H.
Fette, Seifen, Anstrichm. 79, 289 (1977)
- (110) THOMA, K.
Arzneimittelstabilität, Werbe- und Vertriebsgesellschaft Deutscher Apotheker mbH, Frankfurt a.M. 1978
- (111) THOMA, K., R. GRÖNING und TH. ZIMMER
Pharm. Ztg. 123, 1762 (1978)
- (112) Richtlinienentwurf der APV-Richtlinie "Haltbarkeit und Stabilitätsprüfung von Arzneimitteln"
Pharm. Ztg. 129, 340 (1984)
- (113) Gesetz zur Neuordnung des Arzneimittelrechtes vom 24. August 1976, BGBl. I, S. 2445
- (114) GRIMM, W.
Pharm. Ztg. 129, 342 (1984)
- (115) GRIMM, W.
Dtsch. Apoth.-Ztg. 124, 271 (1984)
- (116) LOTH, H. und J. WOLFF
Pharm. Ztg. 126, 2014 (1981)
- (117) Bekanntmachung einer Empfehlung über Lagerungshinweise für Arzneyspezialitäten vom 14. März 1972, Bundesanzeiger Nr. 59 vom 24. März 1972
- (118) WOLFF, A.
Dtsch. Apoth.-Ztg. 112, 2533 (1982)
- (119) REGO, A. und B. NELSON
J. Pharm. Sci. 71, 1219 (1982)
- (120) ROTH, G., P. STRÖMBERG, A. THALEN und L.J. WICKSTRÖM
Proc. of the Symp. on the Analysis of Steroids, Eger, Ungarn 1981
- (121) HORSCH, W. und M. LÖSCHBURG
Pharmazie 32, 622 (1977)

- (122) HORSCH, W. und M. LÖSCHBURG
Pharmazie 36, 447 (1981)
- (123) REIMANN, I., G. HOLBATZ und TH. ECKERT
Arch. Pharm. 307, 321 (1974)
- (124) PERLIA, X.
Pharm. Acta Helv. 42, 265 (1967)
- (125) AKERLÖF, G.
J. Am. Chem. Soc. 54, 124 (1932)
- (126) STRICKER, H.
Pharm. Ind. 37, 182 (1975)
- (127) BÜCHI, J.
Pharm. Acta Helv. 42, 673 (1967)
- (128) ERNI, W. und K. LEUPIN
Pharm. Acta Helv. 50, 275 (1975)
- (129) ECKERT, TH. und W. GÖSSLING
Dtsch. Apoth.-Ztg. 122, 1467 (1982)
- (130) STRICKER, H.
Pharm. Ind. 37, 446 (1975)
- (131) BADER, H.
Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie,
Edition Medizin, Weinheim, Deerfield Beach, Basel 1982
- (132) FORTH, W., D. HENSCHLER und W. RUMMEL
Pharmakologie und Toxikologie
B.I.-Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich 1983
- (133) STÜTTGEN, G. und H. SCHAEFER
Funktionelle Dermatologie
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1974
- (134) SOOS, E.
Antihistaminika
in: Schriftenreihe der Bundesapothekerkammer zur wissenschaftlichen Fortbildung, Band III/Gelbe Reihe,
Frankfurt a.M. 1975

- (135) MUTSCHLER, E.
Arzneimittelwirkungen,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
1975
- (136) BRAUN-FALCO, O., G. PLEWIG und H.H. WOLFF
Dermatologie und Venerologie,
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York,
Tokyo 1984
- (137) RUB-SAIDAC, A., O. BUGNARIU, V. FILIPAS, V. CIOCANELEA
und I. OPREAN
Pharmazie 25, 194 (1970)
- (138) RUB-SAIDAC, A., O. BUGNARIU, V. FILIPAS, V. CIOCANELEA,
I. TIRLEA, L. CUCU-CABADAIEF und I. OPREAN
Pharmazie 25, 252 (1970)
- (139) BUCHMANN, M. und U.W. KESSELRING
Pharm. Acta Helv. 53, 261 (1978)
- (140) BUCHMANN, M. und U.W. KESSELRING
Pharm. Acta Helv. 53, 301 (1978)
- (141) BUCHMANN, M. und U.W. KESSELRING
J. Chromatogr. 213, 515 (1981)
- (142) MOLLICA, J.A. und R.F. STRUSZ
J. Pharm. Sci. 61, 444 (1972)
- (143) SCHWEDT, G., H.H. BUSSEMAS und C. LIPPMANN
J. Chromatogr. 143, 259 (1977)
- (144) TSUEI, S.E. und J.J. ASHLEY
J. Chromatogr. 145, 213 (1978)
- (145) LOO, J.C.K. und N. JORDAN
J. Chromatogr. 143, 314 (1977)
- (146) ROSE, J.Q. und W.J. JUSKO
J. Chromatogr. 162, 273 (1979)
- (147) WIKBY, A., A. THALEN und G. ORESTEN
J. Chromatogr. 157, 65 (1978)

- (148) CAVINA, G., G. MORETTI, R. ALIMENTI, B. GALLINELLA,
R. PORRA und L. VALVO
Proc. of the Symp. on the Analysis of Steroids,
Eger, Ungarn 1981
- (149) GÖRÖG, S.
Quantitative Analysis of Steroids,
Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York 1983
- (150) Assay of Steroids
Firmenbroschüre der Fa. Waters Assoc., Milford,
U.S.A. 1972
- (151) PHOON, K.-W. und C. STUBLEY
J. Chromatogr. 246, 297 (1982)
- (152) STUBER, B. und K.H. MÜLLER
Pharm. Acta Helv. 56, 344 (1981)
- (153) GARG, D.C., J.W. AYRES und J.G. WAGNER
Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 18, 137 (1977)
- (154) BURGESS, C.
J. Chromatogr. 149, 233 (1978)
- (155) WIKBY, A., L. NILSSON und G. HÄLLSAS
J. Chromatogr. 157, 51 (1978)
- (156) SMITH, M.D. und D.J. HOFFMAN
J. Chromatogr. 268, 163 (1979)
- (157) REARDON, G.E., A.M. CALDARELLA und E. CANALIS
Clin. Chem. 25, 122 (1979)
- (158) LANDGRAF, W.C. und E.C. JENNINGS
J. Pharm. Sci. 62, 278 (1973)
- (159) DAS GUPTA, V.
J. Pharm. Sci. 68, 926 (1979)
- (160) TOKUNAGA, H., T. KIMURA und J. KAWAMURA
Iyaku hin Kenkyu 14, 31 (1983)
- (161) KIRSCHBAUM, J., R. CLAY und R. POET
Proc. of the Symp. on the Analysis of Steroids,
Eger, Ungarn 1981

- (162) DIJKSTRA, J. und D. DEKKER
J. Chromatogr. 238, 247 (1982)
- (163) SHEK, E., J. BRAGONJE, E.J. BENJAMIN, M.J. SUTHERLAND
und J.A.P. GLUCK
Int. J. Pharm. 11, 257 (1982)
- (164) BENJAMIN, E.J. und D.L. CONLEY
Int. J. Pharm. 13, 205 (1983)
- (165) MOFFART, A.C. und B. CLARE
J. Pharm. Pharmacol. 26, 665 (1974)
- (166) MASSART, D.L. und M.R. DETAEVERNIER
J. Chromatogr. Sci. 18, 139 (1980)
- (167) LIPPOLD, B.H. und J.F. LICHEY
Arch. Pharm. 314, 541 (1981)
- (168) SORBY, D.L., R.G. BITTER und J.G. WEBB
J. Pharm. Sci. 52, 1149 (1963)
- (169) GRAF, E., A.A. FAWZY und J. TSAKTANIS
Acta Pharm. Technol. 29, 209 (1983)
- (170) SALIB, N., S. ABD EL-FATTAH und M. EL-MASSIK
Pharm. Ind. 45, 902 (1983)
- (171) SALIB, N.N.
Bull. 1st Int. Conf. Pharm. Technol., Paris 1977
- (172) THOMA, K. und E. SIEMER
Pharm. Ind. 38, 914 (1976)
- (173) THOMA, K. und E. SIEMER
Pharm. Acta Helv. 51, 50 (1976)
- (174) SOKOLOWSKI, A. und K.G. WAHLUND
J. Chromatogr. 189, 299 (1980)
- (175) TWITCHETT, P.J. und A.C. MOFFART
J. Chromatogr. 111, 149 (1975)
- (176) COOKE, N.H.C. und K. OLSEN
J. Chromatogr. Sci. 18, 512 (1980)
- (177) BIDLINGMEYER, B.A., J.K. DEL RIOS und J. KORPI
Anal. Chem. 54, 442 (1982)

- (178) NAHUM, A. und C. HORVATH
J. Chromatogr. 203, 53 (1981)
- (179) KLAAS, E.B., C. HORVATH, W.R. MELANDER und A. NAHUM
J. Chromatogr. 203, 65 (1981)
- (180) VAN DER MAEDEN, F.P.B., P.T. VAN RENS und
F.A. BUYTENHUY
J. Chromatogr. 142, 715 (1977)
- (181) JOHANSSON, J.M., K.-G. WAHLUND und G. SCHILL
J. Chromatogr. 149, 281 (1978)
- (182) KRAAK, J.C. und P. BIJSTER
J. Chromatogr. 143, 499 (1977)
- (183) BRODIE, R.R., L.F. CHASSEAUD und D.R. HAWKINS
J. Chromatogr. 143, 535 (1977)
- (184) BIDLINGMEYER, B.A., S.N. DEMING, W.P. PRICE,
B. SACHOK und M. PETRUSEK
J. Chromatogr. 186, 419 (1979)
- (185) BIDLINGMEYER, B.A.
J. Chromatogr. Sci. 18, 525 (1980)
- (186) SCHLEICHER, E.D., F.K. KEES und O.H. WIELAND
Clin. Chim. Acta 129, 295 (1983)
- (187) DREYER, B.
GIT Fachz. Lab. 3, 49 (1983)
- (188) KUSS, H.-J. und M. NATHMANN
Arzneim.-Forsch. 28, 1301 (1978)
- (189) HANSEN, S.H.
J. Chromatogr. 209, 203 (1981)
- (190) HANSEN, S.H., P. HELBOE, M. THOMSEN und K. LUND
J. Chromatogr. 210, 453 (1981)
- (191) CROMMEN, J.
J. Chromatogr. 186, 705 (1979)
- (192) SVENDSEN, H. und T. GREIBROKK
J. Chromatogr. 212, 153 (1981)

- (193) FLANAGAN, R.J., G.C.A. STOREY, R.K. BHAMRA und J. JANE
J. Chromatogr. 247, 15 (1982)
- (194) KNOX, J.H. und J. JURAND
J. Chromatogr. 142, 651 (1977)
- (195) UNGER, K.K.
Porous Silica, in: Journal of Chromatography Library,
Elsevier, Amsterdam 1979
- (196) CHATTEN, L.C.
Pharmaceutical Chemistry, Dekker, New York 1966
- (197) ENGELHARDT, H.
Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie,
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1977
- (198) MEYER, V.
Praxis der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie,
Diesterweg und Salle, Frankfurt, Berlin, München 1980,
Sauerländer, Arau, Frankfurt, Salzburg 1980
- (199) RAUEN, H.M.
Biochemisches Taschenbuch, Band II,
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1964
- (200) MARTIN, A.N., J. SWARBRICK und A. CAMMARATA
Physikalische Pharmazie, Wissenschaftliche Verlags-
gesellschaft mbH, Stuttgart 1980
- (201) GRIMM, W. und J.P. HUGGER
Pharm. Ind. 36, 437 (1974)

L e b e n s l a u f

Jutta Birgid Merk, geb. Wirth geboren am 25.02.1955 in Riesa/
Elbe als Tochter des Tierarztes
Dr. Fritz Wirth und seiner Ehe-
frau Jutta, geb. Klunker; seit
1982 verheiratet mit Dr. K.
Peter Merk

Schulbildung: 1961-1965 Grundschule in Kulmbach
1965-1974 math.-naturwiss. Gym-
nasium in Kulmbach
Abitur am 22.6.1974

Berufsausbildung:

Studium der Pharmazie: SS 1975 - SS 1978 an der Ludwig-
Maximilians-Universität in
München

Praktische Ausbildung: November 1978 - Dezember 1979
in der Inter-Apotheke in München;
Dezember 1978 - Februar 1979 und
Mai 1979 - Juli 1979 am Institut
für Pharmazie und Lebensmittel-
chemie der Ludwig-Maximilians-
Universität in München

Approbation als Apothekerin: 12.3.1980

Wissenschaftliche Tätigkeit: Mai 1980 - Juni 1984 unter Anlei-
tung von Herrn Prof. Dr. K. Thoma

Berufliche Tätigkeit: Mai 1980 - September 1980 als
teilzeitbeschäftigte wiss. Hilfs-
kraft, Oktober 1980 - April 1983
als vollbeschäftigte wiss. Hilfs-
kraft und seit Mai 1983 als Akad.
Rätin a.Z. am Lehrstuhl für Phar-
mazeutische Technologie der
Ludwig-Maximilians-Universität
in München

